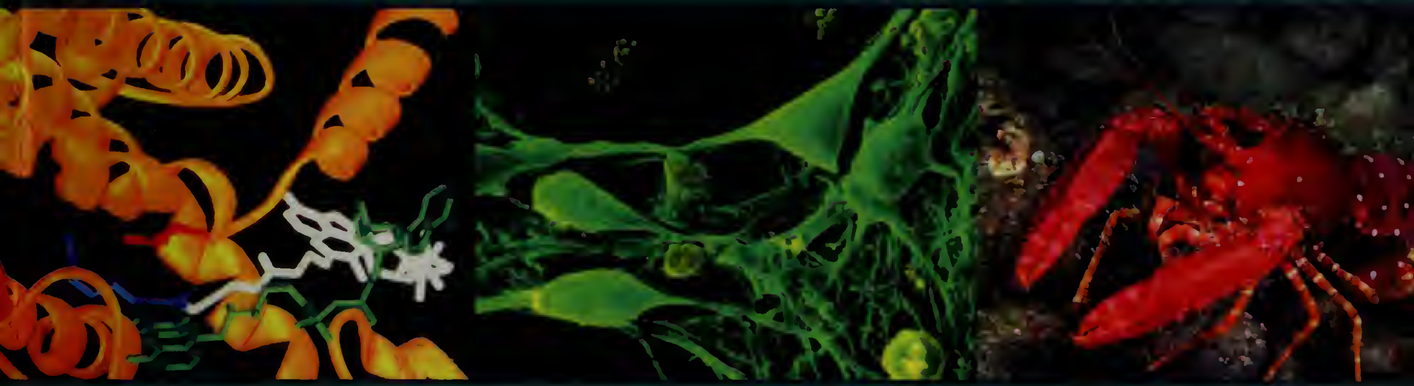
高 · 等 · 院 · 校 · 选 · 用 · 教 · 材

分子细胞生物学

（第二版）



韩贻仁 主编

科 学 出 版 社

分子细胞生物学

贝时璋

1999年5月

中科院植物所图书馆
S0003517

58.1780546
827

高等院校选用教材

分子细胞生物学

（第二版）

韩贻仁　主编

韩贻仁　樊廷俊　杨晓梅　时永香　栗翼玟　编著

山东大学出版基金委员会　资助

科 学 出 版 社
北 京

27839

内 容 简 介

本书全面系统地讲述了细胞生物学的基本内容，在介绍细胞的一般结构和功能的基础上，重点扩增了细胞在发育、遗传、信息传递中的活动和细胞生物工程等方面的内容，体现了细胞的生命属性。本书依据素质教育的原则，在体系安排上，引导学生建立学科系统概念，理解学科发展的连续性；在辅助环节上，注意方法论，启发学生独立思考，培养学生科学思维的创造能力。本书打破了以课时定量的“教案式”结构，篇幅有了较大的扩增，既有利于学生阅读，也为教师的教学留下了游刃空间。

本书可供大学生物学专业作为生物基础课教材。也可供相关专业的研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

分子细胞生物学/韩贻仁主编. - 2 版. -北京：科学出版社，2001.3
(高等院校选用教材)
ISBN 7-03-008639-2

Ⅰ. 分…　Ⅱ. 韩…　Ⅲ. 分子生物学：细胞学-高等学校-教材　Ⅳ. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 64130 号

责任编辑：丁海珈　范淑琴/责任校对：白　颖
责任印制：安春生/封面设计：高海英

科学出版社 出版
北京东黄城根北街16号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
双青印刷厂 印刷

科学出版社发行　各地新华书店经销

*

2001 年 3 月第　二　版　　开本：850×1168　1/16
2003 年 5 月第三次印刷　　印张：51 1/2　插页：2
印数：7 801—11 800　　字数：1 193 000

定价：69.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换〈环伟〉)

前　言

细胞是一切生物的基本结构单位，细胞生物学是研究细胞结构及其生命活动规律的学科。生命并不神秘，实际上生命即是细胞的属性，一切生命现象都是细胞活动的表现。正是由于细胞具有这一独特的属性，从而使细胞在生命起源和个体发生过程中占有独特的地位。在生命起源过程中，细胞的诞生即伴随着生命的出现；在个体发生中，生物通过细胞进行繁衍和延续。

细胞是构成生物的基本元件，生命科学的各个分支学科无不与细胞生物学有着密切的辐射联系。目前生物学正处于飞速发展的时期，其主要特征表现在对细胞生命活动奥秘的认识空前深刻，人类开始有能力按照客观规律对生命进行控制和改造。生命科学的一切研究成就最终都要和细胞联系起来。细胞生物学作为高校的主干基础课，当然应不断地改革和加强，以适应生命科学发展的需要。

细胞是一个结构实体，人类对细胞的研究经历了整体、显微、超微和分子水平几个发展阶段。从目前来看，细胞的整体和超微结构已基本查清，当前的研究重点已向细胞的分子结构同生命活动的关系方面转移。例如，人类基因组计划的实施和蛋白质分子结构 X 线衍射分析技术的广泛应用等，即是细胞生物学研究重点发生阶段性转移的标志。高等学校的细胞生物学教学有必要反映出这一战略重点转移的动向，以便使教学内容由细胞的显微、超微结构同功能关系的水平，发展到更高层次。本书在修订的第二版中，对这方面作了初步尝试。正文中在介绍细胞的一般结构和功能的基础上，重点扩增了细胞在发育、遗传、信息传递中的活动和细胞生物工程等方面的内容，体现了细胞的生命属性。在体系安排上，引导学生建立学科系统概念，理解学科发展的连续性。在辅助环节上，注意方法论，启发学生独立思考，培养学生科学思维的创造能力。

教材是为教师和学生编写的教学材料。然而，教材的主要对象应当是学生，它是对学生进行素质教育的重要环节之一。对理科教学来说，素质教育除了思想品德教育外，应着重培养学生的科学素质，使学生面对浩瀚的知识海洋，具有提出问题和解决问题的独创能力。本教材在编写方式上没有因循“教材—教案—笔记”的格式，避免学生为了争取好的学习成绩，采取死记硬背的学习方法，制约了学生独创能力的发挥，束缚了教师的教学主动性。教材毕竟不同于教案，不能以课时定量。因此，本书再版的篇幅有了较大的扩增，既有利于学生阅读，也为教师的教学留下了游刃空间。

本书第一版面世于 1988 年，时隔 12 年出版第二版，虽然晚了些，但这也为我们留下了较为充裕的积累资料和思考问题的时间和空间。在此期间，得到了许多读者的支持和鼓励，真切要求再版。也有的读者坦诚地提出了中肯的意见和建议，为本书的修订提供了可贵的帮助。值此再版之际，特向读者表示深切的谢意！

尽管我们在修订过程中竭尽所能，渴求完善，但受学术水平所限，错误和疏漏在所难免。诚恳欢迎同行和读者批评指正。

参加本书第二版编著的作者分工如下：第一至第五章，第十三章和第十五至第十八章由韩贻仁编写；第六至第十二章和第十五章由樊廷俊编写；第十四章由粟翼玟编写；第十九章由杨晓梅编写；第二十章由时永香编写。

我国生物学界德高望重的老前辈贝时璋院士对本书的再版甚为关心，时值 97 岁高龄，不辞劳累，亲笔为本书题名，令作者不胜感激！

薛绍白、陈楚楚、翟玉梅、夏光敏、辛华等教授，高建刚、刘伊、赵辉、朱和平等同志，均从不同的方面支持了本书的编写；英国 Roslin 研究所惠赠了克隆羊“Dolly”的图片，美国“Molecular Probe”公司为本书提供了两幅细胞免疫荧光图片；南京新飞达光学仪器公司为本书的出版提供了赞助。作者对他们的热情支持深表谢忱！

我们还要感谢科学出版社丁海珈等编辑对本书的精心编校，为提高本书的出版质量所付出的辛勤劳动。

韩贻仁

前　言

细胞生物学是从细胞的不同结构层次——分子、超微结构和细胞整体来研究生命活动规律的学科。它和生物化学、遗传学形成了生命科学的三足鼎立，这三门学科既是当代生命科学发展的前沿学科，也是生命科学赖以发展的基础。细胞生物学不同于生物学中的一般分支学科，从生物学的发展过程来看，是由个体生物学到局部生物学，再到细胞生物学。细胞生物学是一个层次的生物学，在这一层次上把生物学各个分支学科联系起来，构成了一个统一的整体。

细胞是生命有机体最基本的结构和功能单位，生命是细胞特有的属性，没有细胞就没有生命。正由于细胞具有这种独特的属性，从而规定了细胞生物学在生命科学中所占的重要地位。随着科技的进步，生物学不断向更深入的层次发展，分子生物学的兴起即是这一发展趋势的反映。分子生物学的发展更深刻地揭示了生命现象的许多奥秘，它的每一项成就都在推动着生物学的发展。但是分子不同于细胞，分子，包括大分子，只不过是细胞的组成成分，任何大分子单独存在都不是生物体的基本单位，也不能形成独立生存的生命实体。分子的存在和变化只有在细胞整体结构中才具有生命意义。因此，分子生物学不能取代细胞生物学，正像分子不能取代细胞一样。

生物化学和分子生物学的飞速进步，为细胞生物学的发展增添了新的活力。由于它们向细胞生物学的渗透，在 20 世纪 80 年代中期汇合成了分子细胞生物学。分子细胞生物学的兴起反映出从分子水平上对细胞的结构和生命活动有了更加深刻的理解，细胞生物学的重点已由超微结构的定性研究转移到定位研究分子物理化学变化在细胞生命活动中的作用上来了。这种新的发展动向，在教学中应有所体现。

分子细胞生物学的研究对象是细胞，生命寓于细胞之中。分子细胞生物学最关心的是细胞的时间、空间变化，它的任务是在细胞这个生物体最基本结构单位里探索生命活动的规律性，并通过细胞来认识生命的共同本质。分子细胞生物学要涉及到生物学中的许多分支学科的内容，例如遗传、发育、生理、代谢等。但是，分子细胞生物学具有自己的独立体系，它并不是各个学科内容的简单累加。生物学各个分支学科都有各自观察问题、分析问题的范畴和角度，可是要把各种生命活动同细胞结构相联系，并在细胞水平上统一起来，则是分子细胞生物学的任务，这是其他任何学科所无法取代的。例如，细胞内蛋白质生物合成这样复杂的过程，如果脱离细胞结构只从生物化学角度来讨论，是无法阐述清楚的。分子细胞生物学的发展必然为生物学各分支学科的发展提供更深刻的依据。

本书是作者在山东大学任课使用的教材，几经修改，形成了现在的体系。在编写过程中得到了多方面的帮助。余先觉教授和汪德耀教授对本书的讲义稿提出了一些中肯、宝贵的意见；贝时璋教授和蓝碧霞副研究员为本书提供了资料；美国 Rutgers 大学 C. J. Avers 教授及时寄赠了自己的新著 Cell Biology(1981)、Genetics(1984) 和 Molecular Cell Biology(1986)，并交流了对编写细胞生物学教材的看法；粟翼玟副教授为本书提供了一些遗传学资料；1983 年夏，长春细胞生物学教材评选会上，有些兄弟院校提出了一些意见和建议；1986 年，高等教育出版社委托北京师范大学对本教材进行了审稿，汪堃仁教授、王永潮教授、刘凌云教授、薛绍白副教授、柳惠图副教授、王端顺副教授、聂剑初副教授、张述祖副教授以及李靖炎教授(中国科学院昆明动物研究所)提出了书面评审意见。责任编辑李茂国同志为本书的问世付出了辛勤的劳动。对于大家的热情帮助和支持，特致衷心感谢。

还应特别提到的是修习本课程的同学们，他们在阅读本教材时，认真钻研，提出了许多问题和建议，对提高本教材的质量起了积极的作用。不言而喻，本书的完成也包含了同学们的贡献，是教和学的共同创作。

分子细胞生物学涉及知识面广，内容浩繁且更新迅速。由于作者水平所限，本书中的缺点和错误在所难免，热情希望广大读者多多提出批评和建议。

本书所采用的大部分绘图是由朱和平同志绘制；书中的照片在制作过程中得到了薛凤英和张尚立同志的帮助；尚有一些同志协助做了一些技术性工作。对这些同志的支持，深表谢意。

编　者

1987 年 5 月于山东大学

目　录

第二版前言
第一版前言
第一章　绪论 …… 1
第一节　细胞生物学的研究对象和范围 …… 1
第二节　细胞生物学的发展简史 …… 2
一、细胞的发现 …… 2
二、细胞学说的创立和细胞学的形成 …… 4
三、电镜下的细胞和细胞生物学的兴起 …… 7
四、分子细胞生物学的出现 …… 9
第三节　细胞生物学的研究进展 …… 10
提要 …… 12
第二章　细胞生物学研究方法 …… 15
第一节　形态观察 …… 15
一、光学显微镜 …… 15
二、电子显微镜 …… 21
第二节　生物化学分析 …… 24
一、细胞化学和组织化学技术 …… 24
二、免疫细胞化学 …… 25
三、显微光谱分析技术 …… 26
四、放射自显影术 …… 26
五、超离心技术 …… 27
六、分子杂交技术 …… 28
七、PCR 技术 …… 30
第三节　细胞生理学技术 …… 31
一、膜电位检测技术 …… 31
二、膜片钳位记录技术 …… 31
三、细胞电泳 …… 32
第四节　实验操作技术 …… 33
一、细胞培养 …… 33
二、显微操作技术 …… 35
三、细胞融合 …… 35
四、染色体分析技术 …… 36
提要 …… 40
第三章　细胞的基本概念 …… 43
第一节　细胞的基本特征 …… 43

第二节　原核细胞与真核细胞概念的确立 …… 44
一、原核细胞 …… 45
二、真核细胞 …… 47
第三节　病毒 …… 49
一、病毒的形态和结构 …… 49
二、病毒在细胞内的活动 …… 52
三、类病毒 …… 53
四、病毒的进化地位 …… 54
五、病毒某些属性的启示 …… 54
六、蛋白质感染因子 …… 55
第四节　细胞的形态和大小 …… 55
第五节　细胞的化学组成 …… 58
一、水是原生质最基本的物质 …… 58
二、无机离子 …… 59
三、细胞的有机分子 …… 59
第六节　细胞的能量代谢与生物催化剂 …… 71
一、细胞能量代谢的特点 …… 72
二、酶——生命的催化剂 …… 76
三、细胞的 RNA 催化剂 …… 83
四、蛋白质组学的诞生 …… 84
提要 …… 86
第四章　质膜和细胞表面 …… 89
第一节　质膜的分子结构 …… 89
一、质膜的化学性质 …… 89
二、几种有代表性的质膜模型 …… 91
三、质膜流动性的分子机制 …… 97
四、膜的化学组成和结构 …… 101
五、细胞外被 …… 107
第二节　细胞连接 …… 112
一、紧密连接 …… 113
二、黏合连接 …… 115
三、隔状连接 …… 116
四、桥粒 …… 116
五、间隙连接 …… 118
六、胞间连丝 …… 121
第三节　质膜的特化结构 …… 122
一、微绒毛 …… 122
二、褶皱 …… 125
三、圆泡 …… 125
四、内褶 …… 125
五、纤毛和鞭毛 …… 127
第四节　质膜与物质运输 …… 127

一、膜泡运输 …… 127
二、离子和小分子的穿膜运输 …… 134
提要 …… 145
第五章 细胞外基质 …… 148
第一节 细胞外基质的化学 …… 148
一、多糖的分子结构 …… 149
二、纤维蛋白 …… 154
三、整联蛋白在细胞与细胞外基质相互关系中的作用 …… 169
第二节 植物细胞壁 …… 171
细胞壁的结构和组成 …… 171
第三节 细菌细胞壁 …… 176
提要 …… 178
第六章 内质网和核糖体 …… 181
第一节 细胞质溶质 …… 183
一、细胞质溶质的成分 …… 184
二、细胞质溶质的功能 …… 185
第二节 内质网 …… 187
一、内质网的形态结构 …… 188
二、内质网的化学组成 …… 190
三、内质网的功能 …… 191
四、内质网的特化类型 …… 196
五、内质网的来源 …… 198
第三节 核糖体 …… 198
一、核糖体的基本结构与类型 …… 198
二、核糖体的化学组成 …… 201
三、核糖体的功能 …… 202
提要 …… 205
第七章 高尔基复合体与细胞分泌 …… 209
第一节 高尔基复合体的形态结构 …… 209
第二节 高尔基复合体的化学组成 …… 212
第三节 高尔基复合体的功能 …… 214
一、形成和包装分泌物 …… 214
二、蛋白质和脂类的糖基化 …… 216
三、蛋白质的加工改造 …… 218
四、细胞内的膜泡运输 …… 219
五、膜的转化 …… 220
第四节 高尔基复合体的来源 …… 221
提要 …… 221
第八章 溶酶体和微体 …… 224
第一节 溶酶体 …… 224
一、基本特性 …… 224
二、溶酶体与内吞作用 …… 227

三、内体与膜的再循环 …… 229
四、溶酶体的功能 …… 230
五、溶酶体与疾病 …… 232
六、溶酶体的发生 …… 233
第二节 微体 …… 235
一、过氧化物酶体 …… 235
二、乙醛酸循环体 …… 238
三、微体的发生 …… 239
提要 …… 241
第九章 细胞骨架与细胞运动 …… 243
第一节 微管 …… 244
一、微管的形态结构 …… 244
二、微管的化学组成 …… 245
三、微管的特性 …… 247
四、微管的特异性药物 …… 250
五、微管的功能 …… 250
六、微管组成的细胞器 …… 254
七、细菌鞭毛 …… 262
第二节 纤丝 …… 263
一、横纹肌的结构及收缩机制 …… 264
二、平滑肌收缩机制 …… 271
三、非肌细胞中微丝 …… 272
四、中间丝 …… 281
提要 …… 284
第十章 线粒体与氧化磷酸化 …… 288
第一节 线粒体的形态、大小与分布 …… 289
一、线粒体的形态、大小 …… 289
二、线粒体的数量 …… 289
三、线粒体的分布 …… 290
第二节 线粒体的超微结构 …… 291
一、线粒体外膜 …… 292
二、线粒体内膜 …… 292
三、膜间隙 …… 293
四、线粒体基质 …… 293
第三节 线粒体的化学组成与酶的定位 …… 293
一、线粒体各部分的分离 …… 293
二、线粒体的化学组成 …… 294
三、线粒体中各种酶的定位 …… 295
第四节 线粒体的功能与氧化磷酸化 …… 295
一、生物氧化的分区和定位 …… 296
二、电子传递和氧化磷酸化的分子结构基础 …… 297
三、氧化磷酸化的偶联机制 …… 302

四、ATP 的合成和穿膜机制 …… 306
五、线粒体与疾病 …… 307
第五节　线粒体的半自主性 …… 308
第六节　线粒体的发生 …… 310
第七节　细菌的氧化磷酸化作用 …… 311
提要 …… 313
第十一章　叶绿体与光合作用 …… 316
第一节　叶绿体的形态、大小 …… 316
第二节　叶绿体的超微结构 …… 317
一、叶绿体被膜 …… 317
二、类囊体 …… 318
三、基质 …… 319
第三节　叶绿体的化学组成 …… 320
一、叶绿体被膜 …… 321
二、类囊体 …… 321
三、基质 …… 323
四、电子载体在类囊体膜中的分布 …… 323
第四节　光合作用 …… 324
一、光合作用的基本过程 …… 324
二、光反应 …… 325
三、暗反应 …… 330
第五节　叶绿体的半自主性 …… 333
第六节　叶绿体的发生 …… 334
第七节　原核生物的光合作用 …… 336
提要 …… 337
第十二章　间期细胞核和染色体 …… 340
第一节　细胞核的形态结构 …… 340
一、核被膜与核孔复合体 …… 341
二、染色质和染色体的分子结构 …… 348
三、核仁 …… 365
四、核液 …… 368
第二节　细胞核的化学组成 …… 368
一、染色质的化学组成 …… 368
二、重复 DNA 顺序 …… 370
第三节　核骨架 …… 373
一、核基质 …… 374
二、核纤层与核孔复合体系统 …… 375
三、染色体骨架 …… 375
提要 …… 375
第十三章　细胞的信号转导与信号传递系统 …… 378
第一节　信号细胞与靶细胞 …… 378
一、信号分子与信号细胞 …… 378

二、靶细胞 …… 379
第二节 细胞内信号传递的基本原理 …… 382
一、胞内信号传递的级联反应 …… 382
二、细胞对细胞外信号反应的不同速率 …… 383
第三节 G蛋白关联受体与G蛋白 …… 383
一、G蛋白的结构与活性变化 …… 383
二、G蛋白在信号传递中的功能 …… 385
三、胞内信号传递与第二信使 …… 387
第四节 酶关联受体信号传递途径 …… 393
一、鸟苷酸环化酶性受体 …… 394
二、酪氨酸激酶性受体 …… 394
三、酪氨酸激酶关联性受体 …… 395
四、酪氨酸磷酸酶性受体 …… 396
五、丝氨酸/苏氨酸激酶性受体 …… 396
提要 …… 397
第十四章 细胞的基因表达和蛋白质的生物合成 …… 399
第一节 细胞中的遗传物质 …… 399
一、原核细胞中的遗传物质 …… 399
二、真核生物的遗传物质 …… 400
第二节 细胞内遗传物质的复制与扩增 …… 401
一、原核生物的DNA复制 …… 401
二、真核生物的DNA复制 …… 410
三、DNA复制的其他类型 …… 416
四、基因扩增 …… 418
第三节 转录——基因表达的核心步骤 …… 419
一、RNA聚合酶 …… 420
二、mRNA、rRNA和tRNA的合成 …… 422
第四节 翻译与蛋白质的生物合成 …… 437
一、mRNA、tRNA和核糖体在蛋白质合成中的作用 …… 437
二、与肽链合成有关的可溶性蛋白质因子 …… 439
三、多肽链的合成过程 …… 441
四、新生蛋白质的加工 …… 444
五、蛋白质合成的抑制剂及作用原理 …… 446
第五节 蛋白质合成的调节 …… 447
一、原核生物中蛋白质合成的调控 …… 447
二、真核生物中蛋白质合成的调控 …… 452
第六节 蛋白质的细胞定位 …… 469
一、蛋白质合成后的去向和命运 …… 469
二、蛋白质运输的信号理论 …… 471
三、分子伴侣在蛋白质折叠和运转中的作用 …… 474
四、内质网途径的蛋白质合成及其命运 …… 479
五、游离核糖体上合成的蛋白质的归宿 …… 484

六、原核生物中分泌蛋白的合成 …… 490
七、糙面内质网核糖体上合成蛋白质的外运 …… 491
八、蛋白酶体在蛋白质降解中的作用机制 …… 495
提要 …… 496
第十五章 细胞增殖与细胞周期 …… 503
第一节 原核生物的细胞分裂 …… 503
一、原核细胞的 DNA 复制和胞质分裂 …… 503
二、原核细胞分裂的控制 …… 504
第二节 真核细胞的分裂 …… 504
一、无丝分裂 …… 505
二、有丝分裂 …… 506
三、减数分裂 …… 515
第三节 细胞周期及其调控 …… 526
一、细胞周期(cell cycle) …… 526
二、细胞分裂的影响因素 …… 530
三、细胞周期的调控 …… 532
第四节 细胞分裂的同步化 …… 534
一、分选 …… 535
二、化学同步化 …… 535
三、物理同步化 …… 535
提要 …… 536
第十六章 细胞分化 …… 539
第一节 细胞分化的特征 …… 540
一、形态结构发生差异 …… 540
二、差别基因表达 …… 540
三、细胞分化方向的限定早于形态差异的出现 …… 541
四、分化细胞的表型保持稳定 …… 541
五、去分化与转分化 …… 543
六、细胞的生理状态随分化程度而有所不同 …… 543
第二节 细胞发育潜能的变化 …… 544
一、遗传物质丢失观点的提出 …… 544
二、高度分化的植物体细胞仍具有全能性 …… 544
三、动物高度分化细胞的细胞核仍保持全能性 …… 546
第三节 细胞分化与差别基因表达 …… 550
一、细胞分化的转录调节 …… 550
二、差别基因表达的转录后调节 …… 560
三、细胞分化的翻译水平调节 …… 562
第四节 细胞分化中的核质关系 …… 564
一、受精卵细胞质的不均一性 …… 564
二、细胞质决定子 …… 566
第五节 卵中影响细胞分化的细胞质因子的性质 …… 570
一、决定子是 RNA 调控信息 …… 570

二、调控信息来源于母体 …… 571
三、卵的激活与母体信息的翻译调控 …… 574
第六节　细胞间相互作用和环境因素对细胞分化的影响 …… 575
一、胚胎诱导 …… 575
二、细胞数量效应 …… 576
三、激素的作用 …… 577
四、环境对细胞分化的影响 …… 578
提要 …… 580
第十七章　个体发育的细胞与遗传活动 …… 582
一、先成论与渐成论 …… 582
二、早期实验胚胎学家对卵子的认识 …… 583
第一节　卵子的发生和空间结构的建成 …… 584
一、卵的基本形态 …… 585
二、卵的极性 …… 585
三、果蝇卵极性建立的机制 …… 587
四、母体因子与胚胎模式形成 …… 590
第二节　果蝇个体发育的基本过程 …… 590
一、果蝇的生活周期 …… 591
二、果蝇的早期胚胎发生 …… 591
三、幼虫的发育 …… 593
四、蛹化 …… 593
五、果蝇个体发育过程中的几个关键问题 …… 594
第三节　母体效应基因与体轴的建立 …… 595
一、胚轴的建立与卵轴的关系 …… 595
二、dorsal 蛋白沿 D－V 轴调控合子基因表达 …… 598
三、确定背部结构模式形成的形态发生素为 decapentaplegic 蛋白 …… 600
第四节　合子基因对早期胚胎模式形成的调控作用 …… 601
一、间隔基因沿前后轴将胚胎区分成若干宽带区 …… 601
二、对控基因对副节形成的调控作用 …… 603
三、体节极性基因与幼虫的体节形成 …… 607
第五节　同源异型选择基因与体节发育模式 …… 610
一、同源异型选择基因对体节发育的调控 …… 610
二、果蝇成虫盘分化的基因调控 …… 616
第六节　脊椎动物发育的体型形成 …… 623
一、脊椎动物的基本发育过程 …… 623
二、中胚层诱导信号 …… 624
三、体节的形成 …… 625
四、Hox 基因沿前后轴确定体节的位置特性 …… 627
五、肢体的发育 …… 629
第七节　植物发育的细胞和遗传活动 …… 634
一、植物发育的基本过程 …… 634
二、苗分生组织细胞的发育命运 …… 636

三、花的发生 …… 637
第八节　再生 …… 641
一、再生的类型 …… 641
二、再生与去分化 …… 642
三、去分化的调控机制 …… 642
四、肢体再生与位置值 …… 643
五、去分化与转分化 …… 645
六、哺乳动物的再生潜能 …… 647
七、植物的极化再生 …… 647
第九节　程序性细胞死亡 …… 648
一、基本概念 …… 648
二、程序性细胞死亡的普遍性 …… 650
三、程序性细胞死亡的意义 …… 653
四、程序性细胞死亡的基本过程 …… 653
五、线粒体在细胞凋亡中的关键作用 …… 658
六、程序性细胞死亡的基因调控 …… 660
七、细胞死亡的类型 …… 660
提要 …… 661
第十八章　癌细胞和癌基因 …… 665
第一节　癌细胞的特性 …… 665
一、癌的特征 …… 665
二、癌细胞的几种主要特点 …… 666
第二节　癌的发生与致癌剂 …… 669
一、致癌剂的性质 …… 669
二、肿瘤病毒的发现 …… 671
第三节　癌基因学说的创立 …… 674
一、反转录酶的发现 …… 674
二、癌基因学说的提出 …… 674
三、原癌基因的认识 …… 675
第四节　癌基因产物的转化作用机制 …… 677
病毒癌基因的转化作用 …… 677
第五节　原癌基因的激活与细胞癌变 …… 681
一、原癌基因的激活途径 …… 681
二、细胞癌变是多次基因突变的结果 …… 684
第六节　抑癌基因 …… 684
一、抑癌基因的发现 …… 684
二、抑癌基因的类别 …… 687
第七节　畸胎瘤与胚胎干细胞 …… 688
畸胎瘤 …… 688
提要 …… 690
第十九章　细胞工程 …… 692
第一节　生物工程的兴起 …… 692

一、遗传工程 …… 693
二、细胞工程 …… 694
三、微生物工程 …… 694
四、酶工程 …… 694
第二节　细胞工程的主要技术领域 …… 695
一、细胞培养 …… 695
二、细胞融合 …… 699
三、细胞拆合 …… 703
四、哺乳动物胚胎培养和胚胎移植 …… 705
五、转基因技术 …… 714
六、哺乳动物克隆技术 …… 718
第三节　国内细胞工程研究方面的简况 …… 720
提要 …… 722
第二十章　生命起源与细胞进化 …… 724
第一节　化学进化与生命起源 …… 724
第二节　生物大分子进化的可能途径 …… 727
第三节　分子构成形态实体 …… 729
一、分子团聚物 …… 729
二、膜的自然形成 …… 733
三、细胞重建 …… 734
第四节　原核细胞的出现 …… 735
第五节　真核细胞的起源和进化 …… 739
一、细胞核的起源 …… 740
二、中心粒、过氧化物酶体、线粒体和叶绿体的起源 …… 740
提要 …… 746
附录Ⅰ　分子细胞生物学名词 …… 750
附录Ⅱ　索引 …… 787
附录Ⅲ　分子细胞生物学常用缩写代称 …… 801
附录Ⅳ　氨基酸代号和密码子 …… 804
附录Ⅴ　氨基酸的极性 …… 805

第一章

绪　论

第一节　细胞生物学的研究对象和范围

细胞生物学是现代生物学的基础学科。它是从细胞整体、超微和分子水平上研究细胞的结构和生命活动规律的科学。细胞是一切生物的基本结构单位,它是由膜围成的能独立进行生长繁殖的原生质团。

宇宙间,就目前我们认识到的一切物体,小至基本粒子,大至广阔无垠的星系,其结构都是分层次的。有机界也不例外,同样也包含着不同层次的结构,其中细胞即是一个层次。生物体是由基本结构单位所组成的观点早在公元前3世纪即由希腊哲学家Aristotle(384~322B. C.)提出来了,他认为:"一切植物虽然很复杂,但都是由少数几种基本成分所重复构成。"Aristotle的这一观点,当时是从哲学观点提出来的,他并没有,也不可能指明这种基本成分究竟是什么。此后,经过了一千余年,才明确了细胞是一切生物的基本结构单位。

然而,细胞不同于非生命界的任何结构单位,细胞最独特的属性就是它是一个能独立生存,进行自我调节的开放体系,它在同外界进行物质、能量、信息交换的条件下,处于动态平衡之中。因此,所谓生命实质上即是细胞属性的体现。生物体的一切生命现象,如生长、发育、繁殖、遗传、分化、代谢和激应等都是细胞这个基本单位的活动体现。由此可见,细胞是生命现象的物质结构基础,生命是细胞所独有的运动方式。正像著名的生物学家E. B. Wilson(1925)所说:"许久以来,大家就明确,一切生物学问题的答案最终都要到细胞中去寻找。因为所有生物体都是,或曾经是,一个细胞。"细胞生物学的研究对象是细胞,恰恰由于细胞在生命界中的独特属性,这就不能不使细胞生物学在生命科学中占有核心地位。生物学中的许多分支学科,如生理学、解剖学、遗传学、免疫学、胚胎学、组织学、发育生物学、分子生物学等,都要求从细胞水平上来阐明各自研究领域中生命现象的机制。可以毫不讳言地说,脱离开细胞,现代生物学的所有分支学科都将失去意义。于是,这些分支学科便同细胞生物学形成了交叉重叠关系。细胞生物学的每一步进展必然要渗透到其他学科中去;其他学科所取得的进展同样要推动细胞生物学的发展。现代生物学各个分支学科的交叉汇合将是21世纪生命科学的发展趋势,各个学科都要到细胞中去探索生命现象的奥秘。细胞生物学是一门正在蓬勃发展的学科,它的发展必将不断地把生命科学推向更高的新水平。

我们知道,细胞是由许多超微结构组成的体系,这些超微结构又是由生物大分子所组成。细胞的生命活动发生在各级结构水平上,其中有许多活动是大分子所具有的属性。例如DNA的复制,微管和核糖体的自我装配,就是明显的例证。在体外适当的条件下,亦可重演它们在体内的组装过程。这说明,细胞内的超微结构是符合于分子的力学原理的。分子生物学的研究进展对细胞生物学的发展有着重大的影响。分子生物学的许多成就,如DNA双螺旋模型的提出;基因的核苷酸序列分析;DNA重组技术;酶分子活性基团的定位;大分子立体化学等,都在启发着人们从分子水平上去揭

示生命活动现象的本质,分子生物学的进步推动着细胞生物学向着更深层次发展。

然而,需要指出的是,虽然许多生命现象可以用分子的结构属性来解释,但是生物体最基本的结构单位是细胞,细胞是作为一个整体而存在,分子对于细胞来说总归是从属关系。大分子所表现出的一些属性只有在细胞这个体系里才具有生命的意义。细胞是有秩序的四维结构体系,为各种分子参加生命活动提供了特定的微环境,脱离了这一微环境,大分子的某些属性就要发生变化。例如生物体最主要的遗传物质——DNA,它虽然可以储存着物种的全部信息,可是各种分子必须在细胞内装配成有一定秩序的结构关系,它一旦脱离细胞而单独存在时则毫无生命现象,因此试图用总 DNA 来恢复物种的存在看来是不可能的。各种分子必须在细胞内组配成一定的时空关系,相互协调配合,才能表现出有生命意义的活动变化。细胞外的大分子变化,再复杂也只能是生物化学反应,还称不上是生命活动。细胞是进行生命活动最完善的基本空间结构。目前所知,还不存在有非细胞的生命体。因此,从分子水平上阐明生命现象时,决不能忽视细胞这一基本结构的整体性。

细胞生物学是生命科学中的一门基础学科,然而任何学科的最终目的不仅要认识世界,而且更重要的是要改变世界,造福于人类。细胞生物学和其他学科一样,也是改善人类生存条件的重要手段。细胞生物学更有其特殊性,它在农业、医学和工业开发应用中都曾经,而且正在发挥着重要的作用。农业的良种繁育离不开细胞生物学;医学中的许多严重疾病的防治,如癌症、心血管病、血液病等,也离不开细胞生物学;它的发展还带动了生物产业的发展,特别是在开发生物药品方面创造了巨大的经济效益。总之,生命科学的发展离不开细胞生物学的贡献。有人认为,21 世纪是生命科学的世纪,那么处于生命科学的核心地位的细胞生物学就必然要肩负重任,为生命科学开拓未来,在科教兴国的伟大事业中发挥着自己应有的作用。

第二节　细胞生物学的发展简史

人类对细胞的认识也经历了一个过程,从细胞的发现至今已有三百余年的历史。在此期间,随着技术和实验手段的进步,细胞生物学才得以形成和发展。科学的发展总是和工具的改进分不开的,每当有重大的工具和技术发明时,科学也就在孕育着重大的飞跃。当然,细胞生物学也不例外,由于对细胞的观察、解剖和分析手段的发明和不断进步,也使它由一个水平发展到一个更高的新水平(表 1-1)。科技发展水平具有时代的特征,于是细胞生物学的历史便显现出不同的发展阶段。

一、细胞的发现

细胞的发现是和显微镜的发明分不开的。这是由于大多数细胞的直径都在 30μm 以下,远远超出了肉眼的直观范围(200μm),只有靠放大装置才能看到细胞,这种放大装置就是显微镜。世界上第一架显微镜是由荷兰眼镜商 Z. Jansen(1588~1628) 于 1604 年创制的(图 1-1),这架显微镜实物没有保存下来,其详细结构已无从查考。根据记载,这架显微镜的镜筒长度约 46cm,光学部分是由两个双凸透镜组成,利用自然光作光源。其放大倍数不高,约为 10~30 倍,可观察一些小昆虫的整体形态,如观察跳蚤等,故有“跳蚤镜”之称。Z. Jansen 创造的显微镜在生物学上的意义不大,当时属玩物

性的，与细胞的发现无直接关系。但是，这一成就的意义不可低估，它是在技术学史上把光学放大装置提高到显微镜水平的界标。

一个多世纪以后，英国物理学家 Robert Hooke (1635～1703) 创造了第一架对科学研究有价值的显微镜。他所创制的显微镜放大倍数为 40～140 倍（图 1－2）。Hooke 利用自己制作的显微镜进行了许多观察，他把观察到的现象写成了一本书，书名为《显微图谱》(Micrographia)，发表于 1665 年。在书中他描述了在显微镜下所看到的木栓结构是由许多小空洞所组成（图 1－2），他把这些小空洞称之为 pores(小孔)或 cells(小室)。他以极其兴奋的心情写道："当我一看到这些形象时，我就认为这是我的发现。因为这的确是我第一次看到的微小空洞，可能这也是历史上的第一次发现。显然，这使我理解了软木为什么这么轻的原因。"《显微图谱》一书内容丰富，广泛记载了 Hooke 用自制显微镜对许多种物质的观察结果，包括矿物、动物和植物标本。由此可见，《显微图谱》一书的发表，标志着人类在科学上进入了对物质世界进行显微研究的时代，这是 Hooke 作出的具有历史意义的重大贡献。他在书中所用的"cell"一词是从中世纪拉丁语"*cellulae*"一词变来的，原是小室之意，正像蜂窝中的小室一样。Hooke 在这里所用的"cell"一词实际上是指由植物细胞壁所围成的空腔，因此当时从主观到客观"cell"一词均无细胞的涵义。但是，由于在显微镜下植物细胞的细胞壁要比细胞内部物质明显得多，因此在 Hooke 开始使用"cell"一词以后的 100 多年中，学者们一直把注意力集中到细胞壁上，而对完整细胞内部的观察无什么进展。

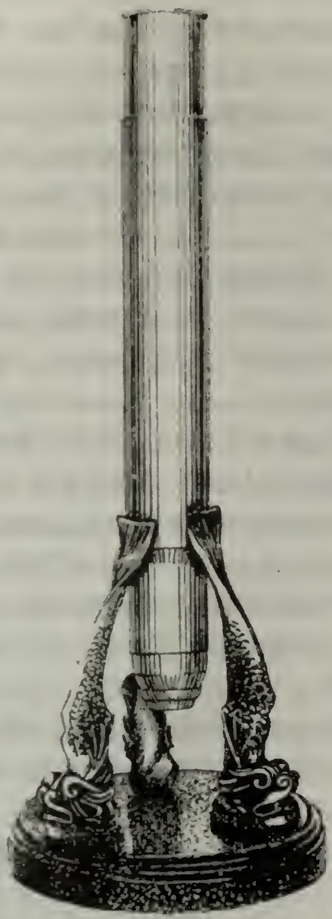


图 1－1　世界上第一架显微镜的模型

与 Hooke 同时代的还有荷兰科学家 Antonie van Leeuwenhoek(1632～1723)，1674 年他用自制的显微镜发现了池塘水中的原生动物。他在 40 余年中对多种动植物活细



(a)



(b)

图 1－2　Hooke 利用自制的显微镜(a)所观察到的木栓薄片组织的图像(b)

胞进行了观察，观察到了人和哺乳动物的精子，也看到了鲑鱼红细胞的核。1683 年他又在牙垢中发现了细菌。他甚至对一些细胞的大小也进行了测量，例如他测得红细胞直径为 7.2μm，细菌为 3μm，与现代测量的数值相近。他把观察到的结果做了详细的纪录，并不断用通讯的方式向英国皇家学会做了报告。他先后写了 30 余封信，他的成就得到了英国皇家学会的肯定。英国皇家学会把他的全部信件译成了英文，汇编成了论文集，冠名为《哲学会报(1673 ~ 1724)》(*Philasophical Transaction*(1673 ~ 1724))。由此可见，Leeuwenhoek 利用自制的显微镜发现了前人从未见到过的大量活细胞。在生物学上，他的成就超过了 Hooke 的贡献，把细胞的发现者的桂冠归属于 Leeuwenhoek，决非“名不副实”。十分可贵的是，他一生亲手磨制了 550 个透镜，装配了 247 架显微镜，为人类制造了一批宝贵的财富。至今保存下来的还有 9 架，收藏于荷兰的乌德勒支大学博物馆 (University Museum of Utrecht)。经对其中的一架检测表明，其放大倍数为 270 倍，分辨率为 2.7μm。但是如果根据他的记录分析判断，当时他使用过的显微镜的放大倍数应为 500 倍，分辨率应为 1.0μm。在当时能达到这样高的水平是十分惊人的。直到 18 世纪末，所制作的显微镜还没有超过这一水平的。Leeuwenhoek 的学历远不如 Hooke，他只上过中学，后当过学徒工和布商，直至 1671 年（39 岁）才开始了科学活动。他最初磨制透镜的目的是为了检查布匹的质量。可是他在 40 年的科学生涯中，学术上贡献卓著。正鉴于 Leeuwenhoek 在生物学上的卓越贡献，1680 年他当选为英国皇家学会外籍会员；1699 年又被授予巴黎科学院通讯院士的荣誉称号。Leeuwenhoek 的一生是刻苦奋斗的一生，他自强不息，孜孜以求，终于由一个布店学徒工成长为一位在学术上出类拔萃的学者，为后人树立了一个自学成才的光辉典范。

二、细胞学说的创立和细胞学的形成

在 Leeuwenhoek 之后的 100 多年中，显微镜制作技术改进不大，分辨率不高，清晰度不够，限制了人们对细胞的进一步认识，致使对细胞的研究无什进展。直到 18 世纪末至 19 世纪初学者们才注意到了植物组织小室中的内部结构，并也把它称为 cell。至此“cell”一词才具有了细胞的真实意义。植物解剖学家 C. B. Mirbel (1809)一反传统观念，认为植物各种组织中的细胞具有独立性。由此可见，尽管早在 17 世纪中期，Hooke 就把“cell”一词用到了生物组织上（实际上是木栓结构），但是真正赋予 cell 一词以细胞含义的时间还是在 19 世纪初期(把 Hooke 看作是细胞的首先发现者，不够准确)。直到 19 世纪 30 年代显微镜制作技术有了明显的进步，分辨率提高到 1μm 以内。此外，再加上发明了切片机，使观察手段大为改进，显微解剖学取得了许多进展。1831 年 R. Brown 在兰科植物叶表皮细胞中发现，细胞质液中有一小球形结构，称其为细胞核，并强调了它的重要性。1835 年 E. Dujardin 把低等动物根足虫和多孔虫细胞内的黏稠物质称为“肉样质”(sarcode)。至此人们认识到，细胞并不像 Hooke 所说的那样是小孔或小室，而是有内容物的结构。

植物细胞表面有一层厚的细胞壁，而动物细胞的边界很不清楚，二者在形态上差别很大，很难看出有什么共同性。尽管如此，19 世纪初二者的统一性已初显端倪。早在 1808 ~ 1809 年 C. B. Mirbel 就指出：“植物是由有膜的细胞性组织所组成。” 1824 年 Dutrochet 更明确地主张：“一切组织，一切动植物器官，实质上都是由形态不同的细胞所组成。”14 年以后，德国植物学家 M. Schleidon(1938)根据自己的观察，论证了所有的

植物体都是由细胞组合而成的。一年以后，德国动物学家 T. Schwann(1839)认为，动物体也是由细胞所组成。T. Schwann 总结了前人的工作，正式提出了细胞学说 (cell theory)，肯定了一切生物体都是由细胞组成的。现在虽说细胞学说的创始人是 M. Schleidon 和 T. Schwann，可是细胞学说的基本观点在其 30 年前就已萌生了。客观而论，Mirbel 和 Dutrochet 也不失为细胞学说的创始人。细胞学说的创立明确了动物和植物之间的统一性。恩格斯曾给予细胞学说以高度评价，把它与进化论和能量守恒定律并列为 19 世纪的三大发现。

后来，解剖学家 Purkinje(1840) 和 von Mohl 则把细胞的内容物称为原生质 (protoplasm)。1861 年 Max Schultze 认为，动植物细胞中的肉样质与原生质实质上是同一种物质。1892 年 O. Hertiwig 把这一理论称之为“原生质学说”。于是，细胞的基本概念就这样初步形成了，“细胞是有膜包围的原生质团”。

M. Schleidon 和 T. Schwann 正确地提出了细胞学说，然而对细胞的产生来源却认识不清。他们认为，细胞是通过所谓的“自由细胞形成”(free cell-formation)过程重新产生的，新细胞是由连续的、无定形的“细胞胚芽”(cytoblastema)物质结晶而成。后来，德国病理学家 R. Virchow(1855)明确指出：“细胞来自细胞”(omnis cellula e cellula)。于是，细胞学说包含了三点内容：①细胞是多细胞生物的最小结构单位，而原生生物本身即是一个细胞单位；②多细胞生物的每一个细胞即是一个活动单位，执行特定的功能；③细胞只能由细胞分裂而来。

细胞学说的创立和原生质理论的提出，把生物学家的注意力引导到细胞内部结构上来了，有力地推动了对细胞的研究。19 世纪下半叶是对细胞研究的繁荣时期，相继发现了一系列重要的细胞结构和细胞活动现象。自从细胞是由原生质组成的概念建立之后，学者们又更明确地把围绕在核周围的原生质称为细胞质 (cytoplasm)，把核内的物质称为核质 (karyoplasm)。1870 年 W. Flemming 肯定了核在保持细胞连续性方面具有重要作用。E. Strasburger 与 W. Flemming 分别用植物和动物材料研究表明，细胞核从一代细胞到下一代细胞保持着实体上的连续性。1875 年 O. Hertwig 发现了受精过程中卵、精两个原核的融合现象。Schneider(1878)把染色质线纵裂为二并均分到两个子细胞的过程称为核分裂 (karyokinesis)。由于分裂过程中核内出现染色质丝，W. Flemming(1880)则把其称为有丝分裂(mitosis)。1885 年 Rabl 证实，两代细胞的染色体保持完整不变。1890 年 Waldeyer 认为，有丝分裂的基本变化是形成核丝——染色体(chromosome)。19 世纪 80 年代末，T. Boveri 报道说，动物配子在形成过程中染色体减少，不久 E. Strasburger 在植物细胞中也发现了这种现象。1905 年 J. R. Farmer 和 J. E. Moore 把行有性生殖生物的生殖细胞，通过分裂使染色体数减半的分裂方式称为减数分裂(meiosis)。这样便明确了核在两代个体间保持了连续性。染色体在减数分裂过程中间少一半，通过受精又在下一代恢复了原数。

19 世纪末叶，对细胞质的观察更加深入细致，相继发现了许多重要的细胞器和结构。例如，在细胞质中发现有中心体(T. Boveri　1880)、线粒体(C. Benda　1989)、内网器(即高尔基体)(C. Golgi　1898)。大家对细胞结构复杂性的认识达到了一个新的水平。

对细胞形态结构认识的逐步深入，为研究细胞的各种活动打下了基础。学者们对细胞的发育和遗传现象，细胞器的功能，以及细胞的生化代谢和生理活动的研究活跃地开展起来，于是便以研究细胞为中心发展起来一些新学科。其中，实验胚胎学方面的研究工作对促进早期细胞学的发展做出了重要贡献。如 His(1831 ~ 1904)、Roux

(1850～1914)等实验胚胎学创始人，对某些动物的发育作了细致的观察，研究了早期胚胎分裂球(细胞)的发育潜能同各发育阶段的关系。后来，Driesch(1892)的工作更深入了一步，他发现海胆两细胞和四细胞阶段的胚胎，每一分裂球都具有发育成完整幼体的能力，说明早期胚胎的分裂球具有全能性(totipotency)。

19世纪末叶，细胞遗传学也得到了迅速发展。1883年W. Roux主张，染色体是遗传单位的携带者。1884年Hertwig和E. Strasburger认为，细胞核含有控制遗传性的因子。1885年Weismann提出了种质(germ plasm)学说，主张种质完全不同于体细胞，它是遗传性的惟一携带者，可一代一代地连续传递下去。早在1865年G. Mendel在家豌豆杂交实验中即得出结论认为，有一种遗传单位控制着性状的发育。1902年W. A. Cannon提出了遗传的染色体学说，认为遗传因子就在染色体上。1909年，丹麦学者W. L. Johannsen将遗传因子定名为"gene"(基因)。

这一时期许多学者在细胞化学分析方面也做了大量工作。1871年F. Miescher报道，从白细胞的核中提取出了核素(nuclein)，核素与其他化合物的不同之处是含磷量很高，而且酸性比较强。1889年R. Altmann把核素提纯后进行了分析，测出其化学组成是由特定的糖和含氮碱基构成的大分子，他把核素更名为核酸(nucleic acid)。1914年R. Feulgen设计出了一种能专一显示DNA的染色法，一些学者用这种方法显示出DNA总是存在于染色体中。迄今，这一方法仍是对细胞中的DNA进行定性和定位的重要方法，特称为Feulgen染色法。

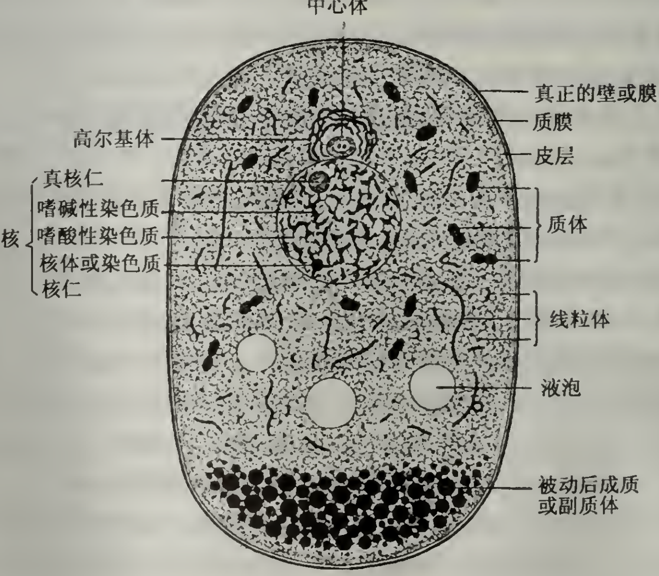


图1－3　1925年E. B. Wilson所绘制的细胞模式图，它反映了在光学显微镜时代对细胞观察的成就

从上面的简介中可以看出，由于细胞学说和原生质理论的提出，19世纪下半叶是细胞研究的黄金时代，对细胞的研究全面展开，新发现不断涌现，人们已对细胞有了初步的系统认识，形成独立学科的条件已经成熟。恰在此时，德国胚胎学家和解剖学家O. Hertwig(1892)应运发表了《细胞与组织》(*Zelle and Gewebe*)的著名专著。他根据细胞的结构和功能特点，并综合各种生命现象得出结论认为："生物变化过程是细胞变

化过程的反映"。他的著作标志着细胞学(cytology)作为一门独立的生物学分支学科开始建立了。此后不久(1896),美国胚胎学家和细胞学家 E. B. Wilson 发表了一本著作,书名为《细胞与发育和遗传》(*The Cell in Development and Heredity*)。这本书是根据他于1892～1893年冬在哥伦比亚大学的讲稿整理而成,可以说是细胞学史上的第一部有系统的细胞学著作。正像 E. B. Wilson 本人所说,这本书的特点是把细胞学、遗传学和胚胎发育结合了起来。1925年该书的第三版问世,书中发表了 E. B. Wilson 绘制的一幅细胞模式图(图 1－3)。图中描绘的细胞含有核、核仁、染色丝、中心粒、质体、高尔基体、液泡和油滴等。这幅模式图反映了光学时代对细胞结构的认识水平,是细胞学史上的第一个具有代表意义的细胞模型。这一模式图一直沿用到20世纪50年代,它是19世纪以来利用光学显微镜研究细胞的结晶。没有高分辨力的光镜要达到这一水平是不可能的,因此我们可以毫不夸张地说,光学显微镜不仅是发现细胞的必要手段,而且也是细胞学诞生的基本技术条件。从细胞的发现到 E. B. Wilson 的第一个细胞模式图的出现,总共经历了二百余年,这是细胞学孕育成熟的漫长历程。这也说明工具和技术对科学发展的重大作用,"工欲善其事,必先利其器"。

三、电镜下的细胞和细胞生物学的兴起

光学显微镜受光源物理性质的限制,其分辨力和放大倍数均无法大幅度提高,因此在20世纪的上半叶的40余年中,对细胞结构的认识没有取得什么突破性的进展。1931年德国科学家 Ruska 发明了电子显微镜,1939年 Siemens 公司生产了世界上第一架商品性的电子显微镜。最初制造的电镜,分辨力约为50nm,后经改进达到10nm。现在甚至可达几个纳米到零点几个纳米。电镜的放大倍数比光学显微镜大得多,能达到几十万倍,甚至一百万倍。电子显微镜的发明又把细胞学带入了第三个大发展时期。20世纪40年代后期,特别是50年代,学者们利用电镜相继观察了各种细胞器的超微结构,例如,内质网(Porter, Claude and Fullan 1945)、叶绿体(Porter, Granick 1947),高尔基体(Dalton and Felix Sjostrand 1950)、核膜(Callan and Tomlin 1950)、溶酶体(de Duve 1952)、线粒体(Palade, Porter, Sjostrand 50年代初)、核糖体(Palade 1953)和单位膜(Robertson 1958)。在电镜下所观察到的各种细胞器的结构要比在光镜下观察到的复杂得多。1961年,J. Brachet 根据电镜下观察到的结构,并集20世纪四五十年代研究之大成,在《活细胞》(*Living Cell*)一文中绘制了一幅细胞模式图(图 1－4)。这幅图比 E. B. Wilson 在20年代绘制的模式图已大为改观了。它的主要特点是,总结了当时对细胞的电镜研究成果,不仅描绘出了细胞的超微结构,而且更反映出了细胞活动的动态观点。例如,吞饮泡和分泌泡就是细胞进行胞吞和胞吐活动的结构形态。此图为各教科书所广泛采用,可以说是细胞学史上的第二个有代表性的细胞模式图。从 E. B. Wilson 的细胞模式图的发表到 J. Brachet 的细胞模式图的出现只经历了60年,这说明随着显微技术的飞跃发展,细胞学的进展速度亦大大加快了。

电镜和其他新技术的应用不仅使人们对细胞结构的认识更加精细了,而且也理解到细胞具有不同层次的结构,例如细胞的整体结构、光学结构、超微结构和分子结构。分子结构水平上的变化对生命活动具有重要意义。实质上,细胞中的一切生理功能和物理化学变化均与发生在分子结构和量子水平上的变化有关。1953年 J. D. Watson 和 H. C. Crick 发现了 DNA 分子的双螺旋结构,根据这一结构弄清了许多

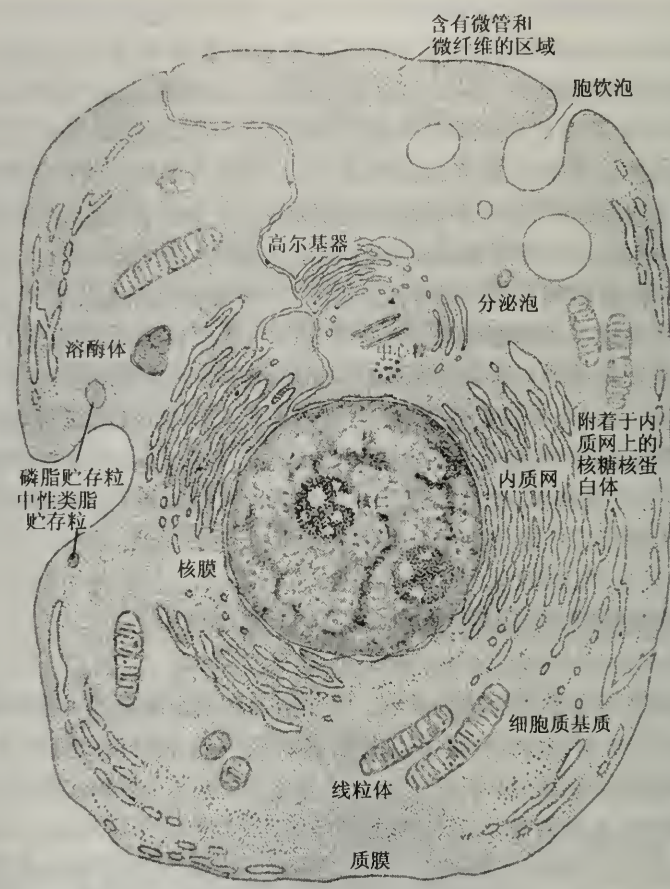


图 1-4　1961 年 J. Brachet 在"*Living Cell*"一文中发表的一幅细胞模式图
这幅图反映了 20 世纪 40～50 年代在电镜下观察到的细胞形象。这时仍把在光镜下看到的
有形结构以外的细胞质称为细胞质基质，认为细胞质基质是匀质的溶液

遗传原理，对遗传学的发展起了划时代的推动作用，这是从分子水平上揭示结构同功能关系的一个极好例证。对亚细胞成分分子结构的研究进展，使人们对细胞的认识水平又进入了一个新的境界。细胞学是在光学显微镜为主要观察手段的时代形成和发展的，侧重于研究细胞整体水平的形态和生理变化。进入了 20 世纪 50 年代以后，学者们把注意力转移到细胞的超微结构和分子结构水平上来了。这主要是由于超离心、X 光衍射等新技术的应用，使学者有可能将亚细胞成分和大分子分离出来进行分析，这一研究水平显然是光学显微镜时代的细胞学所不及的。从多方位研究细胞的生命活动远远超越了细胞学的传统范畴，于是，在细胞学的基础上发展出了细胞生物学。E. D. P. De Robertis 率先将其编著《普通细胞学》教科书的第四版更名为《细胞生物学》他在该书第七版（1980）的序言中写道："本门学科发展异常迅速，自本书 1946 年出版以来，取得了许多革命性的发现，诸如细胞成分的超微结构和分子结构，以及遗传密码和基因表达等。这些巨大的进步，不得不使我们把原来的《普通细胞学》在 1965 年改名为《细胞生物学》。"细胞生物学不同于细胞学主要有两点：①深刻性。它从细胞的整体、超微和分子各个结构层次对细胞进行剖析，并把细胞的生命活动同分子水平和超分子水平的变化联系起来。②综合性。它所研究的内容极其广泛，涉及到许多领域，同

生理学、遗传学、发育生物学和生物化学相互融会在一起。

由此可见，细胞生物学的兴起是先进技术发展的必然产物。如果说光学显微镜的使用为细胞学的产生和发展开辟了道路，那么电子显微结合其他先进技术的应用，则促成了细胞生物学的诞生。

四、分子细胞生物学的出现

20 世纪 50 年代虽然对某些细胞器的细微结构有了一定的认识，但是由于受电镜分辨力和标本制作技术的限制，对所谓的细胞质基质的结构几乎一无所知。当时认为，细胞质中的细胞器似乎是悬浮在溶液状的基质中。至 60 年代，由于电镜标本固定技术的改进，显示出在基质中还有微管和微丝的存在，后又发现还有中间丝的存在。至此，大家认识到，所谓的细胞质基质并不像过去想象的那样，好像是匀质的溶液，而是还含有具有一定秩序的立体网络结构，这些结构形成了纵横交错的"骨架"，总称为细胞骨架(cytoskeleton)(图 1－5)。细胞骨架与细胞器的空间分布，细胞功能活动和细胞运动，以及物质运输有着密切的关系。细胞骨架的发现是细胞超微结构研究方面的重大进展。现在认识到，细胞质的胶态是由肌动蛋白丝的结构状态决定的，因而现在把除膜性细胞器和有形结构以外的细胞质部分称为细胞质溶质(cytosol)。

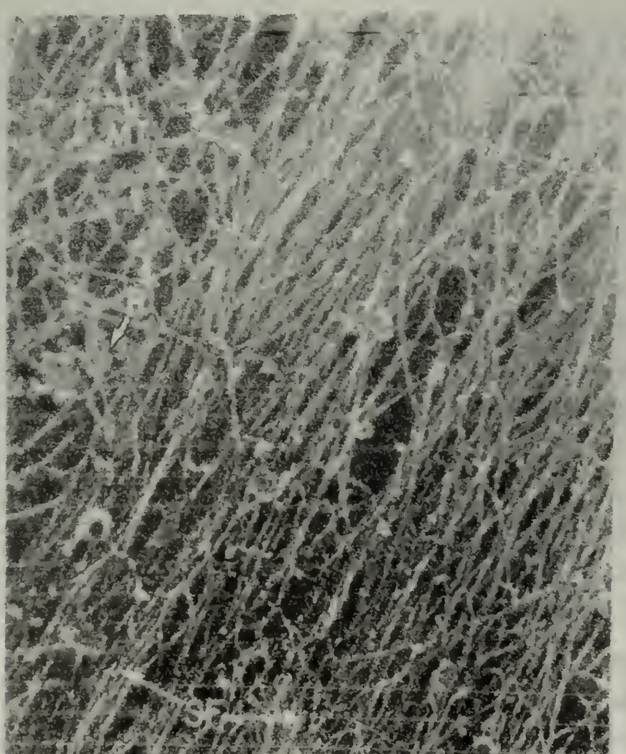


图 1－5 经冰冻干燥显示成纤维细胞的细胞骨架成分的电镜照片

MT，微管；R，核糖体群；SF，组成应力纤维的微丝(自 Kirschner, M. W. 1980)

20 世纪 70 年代以前，学者对细胞的概念主要是依据光学和电子显微镜观察到的

形态结构建立起来的。现代细胞生物学，由于分子生物学的发展而跃上了新的台阶。现在人们已认识到，细胞的各种活动与大分子的结构变化和分子间的相互作用有着密切的关系。例如，细胞中的遗传信息的表达，代谢的调控，信号传递等问题越来越受学者们的关注，细胞的这些活动无不与分子结构的变化有关，所谓的分子细胞生物学的兴起无疑是细胞生物学研究重点转移的反映。把细胞的生命活动同亚细胞成分的分子结构变化联系起来，成了现代细胞生物学的基本特征。20 世纪 90 年代出现的基因组学和蛋白质组学代表了现代细胞生物学的发展动向。然而细胞生物学的研究对象并没有改变，依然是细胞，它将永远与生命科学一起共存和发展。

从上述细胞生物学发展简史的四个阶段说明，三百余年来细胞生物学的每一次大发展都是以重大的技术进步为前提。然而，细胞生物学的发展决不会到此止步，“经典”与“现代”之间并无固定不变的界限，今日的“现代”也会变为明日的“经典”，我们总要面向未来。

第三节　细胞生物学的研究进展

细胞是生物体最基本的结构和功能单位。细胞生物学过去是在研究细胞的结构与功能中发展起来的，今后仍将围绕着细胞的结构与功能的关系来不断开拓新的研究领域，只不过是使用的技术方法将更加先进，研究的结构层次将更加细微，阐明的问题将更加深刻。

生命具有自我复制、自我装配和自我调控的基本特征，这些现象反映在细胞的各级水平上，特别是分子水平上。细胞生物学的研究范围必然要从细胞的细微结构深入到分子水平上的结构与功能。近 40 余年来，细胞生物学在这方面已取得了许多成就，例如对质膜、线粒体膜、核糖体、细胞骨架、染色体等的分子结构与功能研究都取得了重大进展。特别值得提及的是，在基因组结构和基因表达与蛋白质合成方面所取得的成就尤为出色。继 1953 年 Watson 和 Crick 发现 DNA 双螺旋结构之后，1958 年 Crick 又提出了遗传信息传递的“中心法则”(central dogma)；1960 年 Jacob 和 Monod 提出了蛋白质合成调控机制的操纵子学说(operon theory)；1970 年 Baltimore 在肿瘤病毒的研究中发现了反转录酶。1977 年底第一次把高等动物的生长激素释放抑制素(somatostatin, SRIF)基因引入大肠杆菌，并得到了表达，大肠杆菌合成了生长激素释放抑制素。1979 年美国哈佛大学一研究组把小鼠胰岛素基因引入大肠杆菌，合成了胰岛素。20 世纪 70 年代以来由于 DNA 重组、剪接技术的迅速发展，已有遗传工程的兴起。1981 年中国科学院上海生物化学研究所、上海细胞生物研究所、北京大学等单位合作，经过 13 年的努力，人工合成了酵母丙氨酸转移核糖核酸，这项成果是我国继在世界上领先人工合成牛胰岛素之后，又取得的一项世界性的重大成就。1990 年美国启动了“人类基因组计划”(Human Genome Project) 的浩大工程，计划利用 15 年的时间完成人类单倍体数染色体所含全部基因的测序工作。1999 年 11 月“*Nature*”报道，经几国学者的共同努力，已完成了人类第 22 对染色体 DNA 的测序工作，这是“人类基因组计划”的重大研究进展。继美国之后，欧共体、意大利、日本、俄罗斯、法国、加拿大、澳大利亚和中国亦先后开展了人类基因组的基因克隆和测序研究。2000 年 6 月 26 日，美国、日本、英国、法国、德国和中国 6 国科学家同时宣布，人类基因组“工作框架图”绘制完成。至此，“人类基因组计划”测序任务提前完成，这是一大批各国科学家共同合作，历时 10 年辛勤

表 1-1　细胞生物学发展史上的一些重要进展

年　代	学　者	主　要　贡　献
1665	R. Hooke	著有《显微图谱》(*Micrographia*)一书，首次发现木栓中有许多蜂窝状小孔，将小孔命名为"cell"
1667	A. van Leeuwenhoek	首先发现了细菌、原生生物、红细胞、精子等活细胞，初次观察到某些细胞中的核
1824	Dutrochet	初次主张动植物组织是由细胞单位组成
1838	M. Schleidon	证实植物体是由细胞所组成
1839	T. Schwann	证明动物体是由细胞所组成，并总结出了一切生物是由细胞所组成的"细胞学说"
1840	J. Purkinje	提出了组成细胞的原生质概念
1855	R. Virchow	提出了细胞只能由细胞分裂而来的观点
1866	G. Mendel	发表《植物杂交实验》(*Experiments of Plant-Hybridi zation*)一书，总结出性状分离定律和独立分配定律
1873	A. Schneider	首先提到有丝分裂
1879	W. Flemming	表明在核分裂过程中染色体纵裂为二，分别移入两个子细胞核中
1887	A. Weismann	主张行有性生殖的生物，染色体数要有周期性的减半与复原变化
1888	T. Boveri	发现中心粒
1889	R. Altmann	把核内含磷的酸性物质核素(nuclein)称为核酸
1896	E. B. Wilson	发表了"*The Cell in Development and Heredity*"的重要著作
1898	C. Benda	发现线粒体
1898	C. Golgi	发现网状体，即高尔基体
1931	M. Knoll & E. Ruska	发明了电子显微镜
1935	F. Zernicke	发明相差显微镜，1953 年获诺贝尔奖
1953	J. D. Watson & F. H. C. Crick, M. H. F. Wilkins	提出了 DNA 双螺旋模型，1962 年获诺贝尔奖
1958	J. D. Robertson	提出膜结构的三层式单位膜模型
1958	F. H. C. Crick	提出 DNA→RNA→蛋白质遗传信息单向传递的"中心法则"
1960	E. Jacob & J. Monod	提出操纵子学说，1965 年获诺贝尔奖
1961	P. Mitchell	提出线粒体氧化磷酸化偶联机制的化学渗透学说，1978 获得诺贝尔奖
1968	M. W. Nirenberg	阐明了遗传密码在蛋白质合成中的作用，1968 年获诺贝尔奖
1969	T. C. Hsu(徐道觉)	发明染色体分带技术
1969	R. Huebner & G. Todaro	创立癌基因学说
1970	Y. Stanier	提出原核生物与真核生物新的分类概念
1970	L. Marglis	创立真核生物进化的内共生学说
1970	D. Baltimore	发现反转录酶，1975 年获诺贝尔奖
1971	H. M. Temin	阐明原癌基因与细胞癌变的关系
1972	S. J. Singer & G. L. Nicolson	创立生物膜的流动镶嵌模型
1972	S. B. Prusiner	发现蛋白质性的感染因子 prion，1997 年获诺贝尔奖
1974	A. L. Olins & D. E. Olins	在电镜下观察到染色质纤维是由珠状颗粒串连而成
1974	R. D. Korberg	主张染色质是由 DNA 和组蛋白构成的亚单位重复组成，将亚单位命名为核小体
1975	F. Sanger	发明 DNA 序列分析技术
1975	G. Milstein & G. Kohler	发明利用杂交瘤技术制作单克隆抗体，1984 年获诺贝尔奖
1976	K. Weber	发现细胞骨架中的 10nm 丝
1976	E. Neher & B. Sakmann	发现细胞质膜上的离子通道，1991 年获诺贝尔奖
1977	K. Itakuru	合成下丘脑肽激素-生长激素释放抑制素(SRIF)基因，引入大肠杆菌得到表达
1978～1988	B. Nüsslein-Volhard & E. Wieschaus	阐明同源异型基因在控制生物个体发育中的作用，1996 年获诺贝尔奖
1997	I. Wilmut et al.	用乳腺细胞同去除染色质的卵细胞质融合制作成功克隆羊
1997	K. Luger et al.	利用高分辨力 X 射线晶体分析技术显示核小体核心组蛋白 8 聚体的原子水平结构
1999	G. Blobel	创立胞内蛋白质运输信号学说，阐明内质网蛋白质合成分子机制，获 1999 年诺贝尔奖
2000	美、英、日、法、德、中 6 国学者	人类基因组草图绘制完成

劳动的辉煌研究成果，这一天是人类自然科学史上值得纪念的日子。这项计划的完成必将大大造福于人类。1996 年中国科学院生物化学研究所洪国藩研究组在世界上率先构建成功水稻基因组物理全图，这项成果为最终揭示水稻遗传信息的奥秘奠定了基础。分子生物学的这些重大进展推动着细胞生物学向着新的水平迈进。

蛋白质分子的生物活性与其构象的变化有着密切的关系，构象的改变往往引起分子活性的改变或丧失，从而影响着细胞的生理和代谢活动。当前，细胞生物学已进入了研究大分子结构变化与细胞生理活动的关系的阶段，正面临着分子解剖的艰巨任务。在形态学方面，既然人们已利用电子显微镜看清了细胞的超微结构，那么就一定有可能利用新工具显示出超微结构的分子三维结构。近几年来纳米技术的迅速发展，就预示着这一前景即将到来。电子显微镜同衍射原理相结合而研制成功的晶体显微镜，就朝着这方面迈进了重要的一步。据报道，1985 年日本一研究组在高压电镜下已观察到了 DNA 分子的三维双螺旋结构。1986 年美国、日本又研制成功了扫描隧道显微镜。1996 年有的学者在纽约 IBM 的实验室发明了分辨力为 1nm 扫描干扰显微镜(SIAM)，可以识别分子。1997 年瑞士学者 Luger 等利用高分辨力(2. 8Å)X 射线显示了染色质核小体核心组蛋白 8 聚体的原子水平结构。这些新技术的应用，使人们有可能用直接显示的方法查清细胞生理活动过程中的分子结构的细微变化，为细胞生物学的发展带来新的飞跃。

近 20 几年来，我国在细胞生物学方面已有了迅速的发展，中国科学院上海细胞生物学研究所的建立和 1980 年中国细胞生物学学会的成立，是我国细胞生物学进入新的发展时期的标志。然而，目前我国细胞生物学的发展水平同世界先进水平相比还有相当的差距，主要表现在处于世界领先水平的研究成果太少，这与我们的大国地位很不相称。这既有历史的原因，也有我国经济实力不济和政策不完善的因素。现在，我国政府已把“科教兴国”作为重要的建国方针之一，这一方针正在不断地得到落实。只要我们能有紧迫感，组建成稳定的科技队伍，并得到相应的支持，细胞生物学工作者定会充分发挥出自己的聪明才智，群策群力，奋发图强，不久的将来一定能使中国的细胞生物学在 21 世纪上半叶赶上世界先进水平。

表 1-1 列出了细胞生物学发展史中的一些重大研究成果。

提　　要

细胞是由膜围成的能独立进行繁殖的原生质团。一切生物都是由细胞组成的。细胞生物学是从细胞整体、超微和分子等各级水平上研究细胞结构及其生命活动规律的科学。现代细胞生物学与遗传学、生理学、发育生物学、生物化学和分子生物学的关系日趋密切。细胞生物学在生命科学中占有中心地位。

细胞是生物体最基本的形态结构和功能单位。生命现象是细胞存在的运动方式，由此可见生命现象可以说是细胞所独具的属性。迄今没有发现有非细胞的生命存在。多细胞生物要比单个细胞更为复杂。可是，从本质上来讲，它仍然是以细胞活动为基础，形成了多细胞相互协调，密切配合的联合统一整体，不仅在成体中是这样，而且在个体发生过程中也是如此。研究生物整体与细胞群体之间和细胞群体中细胞之间的关系的学科称为细胞社会学。

细胞生物学的任务是以细胞为着眼点，与其他学科的重要概念兼容并蓄，来阐明生物各级结构层次生命现象的本质。迄今，细胞生物学已有三百余年的发展历史，在此期间它大体上经历了细胞的发现；细胞学说的创立和细胞学的形成；细胞生物学的出现；分子细胞生物学的兴起等各主要的发展阶段。细胞生物学的发展与其他自然学科一样，都是以工具的改进和技术的进步为前提的。细胞的发现与显微镜的发明分不开。1665 年，Hooke 利用自制的显微镜发现了细胞是由许多微小的空洞组成的，他把这些小空洞称为 pores（小孔）或 cells（小室）。虽然 Hooke 的观察并没有发现真正的细胞，可是却显示出生物体中存在有更微细的结构，对后来认识细胞具有开创性的意义。与 Hooke 同时代的荷兰学者 A. van Leeuwenhoek 发现了许多种活细胞，客观而论，细胞的发现的功绩应归属于他。19 世纪上半叶，随着显微镜质量的提高和切片机的发明，对细胞的认识日趋深入。学者们开始认识到生物体是由细胞构成的，于是在 1838 ~ 1839 年，M. Schleidon 和 T. Schwann 在总结前人工作的基础上提出了细胞学说。细胞学说的基本内容是：一切生物是由细胞构成的；细胞是生物体的基本功能单位；细胞只能由细胞分裂而来。细胞学说的创立对生物学的发展起了重大的推动作用，此后对细胞的研究如雨后春笋般地活跃起来。O. Hertwig 的"*Zelle und Gewebe*"（1892）和 E. B. Wilson 的"*The Cell in Development and Heredity*"（1896）两本经典著作的发表，标志着细胞学已成为一门独立的学科。E. B. Wilson 根据学者们已取得的大量资料做出了这样的结论："一切生物学问题的答案最终要到细胞中去寻找。"他的这句话对后来细胞生物学的发展具有指导意义。电子显微镜的发明和分子生物学的产生，特别是 J. Watson 和 H. Crick 的 DNA 双螺旋模型的提出，又把细胞学的发展向前推进了一步。20 世纪 50 年代对细胞在超微结构水平上的形态和机能活动的研究更加深入，同时研究细胞的手段也更加精密化和多样化，从而使人们对细胞的认识要比在光镜水平上的认识大为改观了，于是细胞学便进一步发展为细胞生物学。随着生物化学和分子生物学的飞速发展，细胞各级水平上的活动越来越多地可根据分子结构的变化加以解释。因而，要深刻说明细胞的生理活动就不能不同细胞中的分子变化联系起来，由此便自然产生了分子细胞生物学，现代细胞生物学发展到了一个新阶段。

20 世纪 70 年代后期以来，有了高压电子显微镜、扫描隧道电子显微镜和高分辨率 X 射线衍射技术。这些先进工具和精密技术的应用，使我们有可能在超微结构和分子三维结构水平上研究细胞的结构和功能活动的关系。特别是扫描隧道电子显微镜的发明和高分辨率 X 射线分析技术的应用，更能观察到分子中的原子布阵，在细胞这个微观世界里展现出一个更细微的世界。当今的科学在加速度地向前发展，人类的视野越来越广阔，21 世纪的生命科学将展现出诱人的前景，有关细胞这个生命基本单位的研究前景将更加绚丽多彩，浩瀚无穷。

复习思考题

1. 细胞生物学的任务是什么？它的范围都包括哪些？
2. 你认为是谁首先发现了细胞？
3. 细胞学说建立的前提条件是什么？
4. 细胞生物学各发展阶段的主要特征是什么？
5. 细胞生物学与分子生物学是不同水平的学科吗？
6. 你怎样预测 21 世纪生物学和细胞生物学的主要发展方向？

主要参考文献

陈竺、李伟、俞曼等，1998. 人类基因组计划的机遇和挑战：I. 从结构基因组学到功能基因组学，生命的化学，18(5):5～13

韩贻仁，1985. 从细胞到细胞生物学，生物学通报，6: 16～18

韩贻仁，1999. 谁首先发现了细胞，生物学通报，34(4):40～42

王亚辉，1986. 细胞生物学的发展历史和现况，细胞生物学杂志，8(6): 7～11

翟中和等，1995. 细胞生物学，北京：高等教育出版社，1～10

郑国锠，1992. 细胞生物学(第二版)，北京：高等教育出版社，1～7

庄孝僡，1986. 从胡克到细胞生物学，细胞生物学杂志，8(6): 1～6

Alberts, B., 1998. The Cell as a Collection of Protein Machines Preparing the Next Generation of Molecular Biologists. Cell, 92: 291～294

De Robertis, E. D. P. et al., 1964. 普通细胞学(第三版)，北京：科学出版社，序言 1～12

Avers, C. J., 1986. *Molecular Cell Biology*, Addison Wesley publishing Company, Massachusetts, 3～7.

De Robertis & De Robertis, 1987. *Cell and Molecular Biology*, 8th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 3～11

Karp, G., 1984. *Cell Biology*, 2nd ed., McGraw-Hill Book Company, New York, XI-XVI

Sharp, L. W., 1943. *Fundamentals of Cytology*, McGraw-Hill Book Company, New York & London, 1～10

Wilson, E. B., 1925. *The Cell in Development and Heredity*, 3nd ed., The Macmillan Company, New York, 1～18

第二章

细胞生物学研究方法

从前一章的细胞生物学简史介绍可以看出，工具的改进和方法学上的进步推动着细胞生物学的不断发展，这也是自然科学发展的一般规律。毫无疑问，细胞生物学今后的发展也必然要依赖于技术的进步，科学与技术总是一对相辅相成的事物。因此，了解和掌握细胞生物学的研究方法，并在此基础上不断加以创新，就会在发展细胞生物学方面做出自己应有的贡献。

现代细胞生物学的研究方法很多，原理不同，操作技术和过程亦各异。在有限的篇幅里我们只能就几种主要的方法及其原理作梗概的介绍，以期能使大家对细胞生物学的主要方法有所了解，从而有利于掌握本学科的基本内容。至于在研究工作中，则要根据各自的工作实际需要，有选择地学习掌握某些特定的方法和技术。

细胞生物学的研究方法归纳起来大体上可划分为四大类：形态观察；生化分析；生理检测；实验性操作技术。

第一节　形态观察

解剖、观察、分析历来是生物学研究的基本手段。用于细胞解剖观察的主要工具是显微镜。目前所使用的显微镜，根据光源不同，可分为光学显微镜和电子显微镜两大类。前者以可见光（紫外线显微镜以紫外光）为光源，后者则以电子束为光源。

一、光学显微镜

（一）普通光学显微镜

普通生物显微镜是复合式显微镜，至今它仍是我们观察细胞形态最常用的工具。普通显微镜是由聚光器、物镜和目镜三部分组成。其中后两部分是显微镜的主体（图 2-1）。在一般想象中，似乎显微镜的放大倍数越大，观察到的物体应该越清楚。然而事实并不然，因为我们看到的物象是否清楚不仅决定于放大倍数，而且还要受到一些物理因素和透镜质量的影响，例如球差和色差。然而，球差和色差均可利用适当的凹透镜加以调整和抵消，因此它们造成的成像模糊不是不可克服的。所谓球差，即是由于透镜不能把近光轴的光线和离光轴远的光线在光轴上共聚焦。所以透过标本一点的光线通过透镜后，不能聚焦成一点，而是形成一个光斑，使成像模糊不清。所谓色差，是由于显微镜对不同颜色的光线具有不同的折射率造成的。透镜类似于三棱镜，可使不同色的光线产生不同的偏折。光线透过透镜后，不同色的光聚焦在不同点上，从而使成像模糊，而且像的边缘尚带有色彩（图 2－2）。

影响显微镜成像清晰度最关键的因素是显微镜的分辨率（resolution）。不同波长的光线具有不同的折射率，分辨率是指显微镜能将近邻的两个质点分辨清楚的能力，分辨率的大小决定于光波的波长和镜口率，通常是用相邻两点间的距离来表示，可通过

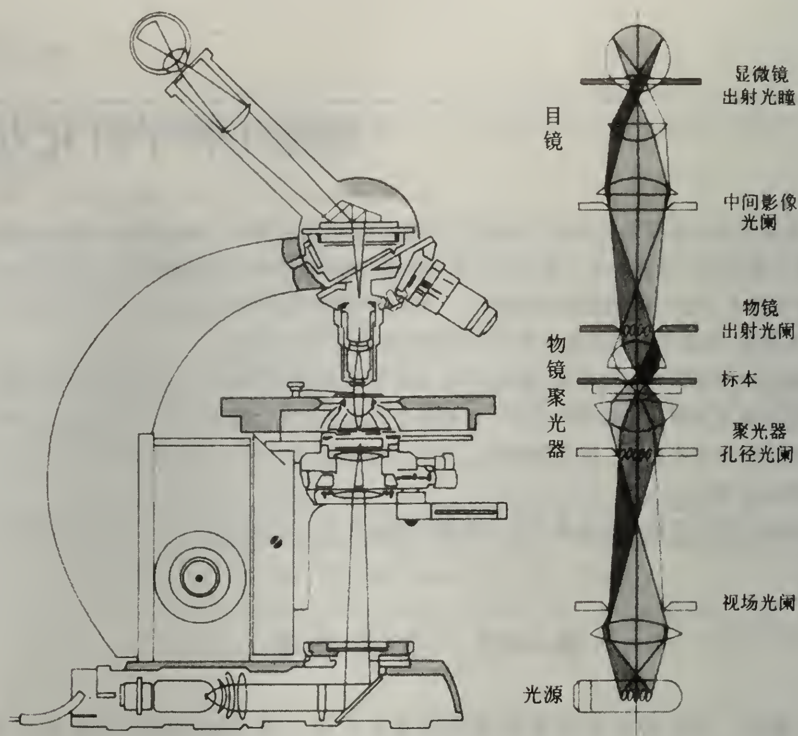


图 2-1　普通光学显微镜的成像原理

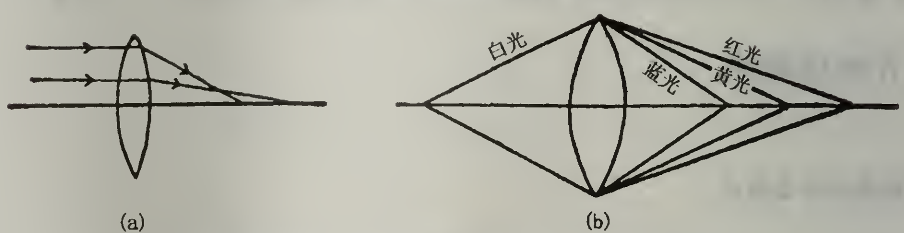


图 2-2　显微镜产生球差(a)和色差(b)产生原理示意图

球差是透镜引起的,色差是不同波长造成的

公式换算出:

$$D=\frac{0.61\lambda}{N.\ A.}$$

式中的 λ 代表光波波长; *N. A.* 为镜口率,亦称为数值孔径(numerical aperture),或简写为 A。*D* 值越小,分辨能力越高。显微镜的物镜和聚光器上都注有镜口率的数值,如低倍镜的为 0.28,高倍镜的为 0.65,油镜的为 1.25。放大倍数越大,要求镜口率越大(表 2-1)。

从上面的分辨率公式可以看出,要想得到高分辨率则要缩短波长和加大镜口率。在普通光学显微镜中我们使用的光源为可见光,波长为 400~700nm(计算时取其平均值为 550nm),这个数值无法改变,惟一可改变的数值为镜口率(图 2-3)(N. A.)。镜口

表 2－1 标准物镜的几个数值

焦距(mm)	光筒长 (mm)	放大倍数	镜口率(N.A.)	工作距离(mm)
16	160	10×	0.28	6.5
8	160	20×	0.50	2.0
4	160	40×	0.65	0.60
2	180	80×	1.25	0.20

率的大小决定于镜口角的大小和物镜与标本间介质的折射率(refraction co-efficient)的大小,其计算公式如下:

$$N.\ A.\ = n.\ \sin\frac{\alpha}{2}$$

式中:n=物镜与标本间介质的折射率;α=镜口角(聚光器交点对物镜镜口的张角)。因此，镜口率与 n 及 $\sin\alpha/2$ 成正比。制作镜头所用的光学玻璃的折射率为 1.65～1.78，所用介质的折射率越接近玻璃的越理想。空气的折射率为 1；水为 1.33；香柏油为 1.515；α 溴萘为 1.660。镜口角总是要小于 180°，所以 $\sin\alpha/2$ 的最大值必然小于 1。对于干燥物镜来说，介质为空气，镜口率一般为 0.05～0.95；油镜头用香柏油为介质，镜口率可接近 1.5，如果用 α 溴萘则可达 1.6。根据计算，显微镜最小数值不会小于 0.2μm（将 1.6 代入分辨率公式求得），约等于光波的一半，这一数值是光学显微镜分辨率的极限。限制显微镜分辨率的关键因素是光的波长（光的衍射效应），光学显微镜无论制作得如何精密，都无法突破这一极限。所以一般显微镜设计的最大放大倍数为 1000～1500，因为将 0.2μm 的质点放大到 0.2～0.3mm 即可以辨认清楚。如果分辨率不再提高，只提高放大倍数，也就没有什么意义了，因为这样并不能增加图像的清晰度。

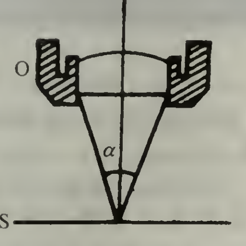


图 2-3 物镜的镜口率
O、物镜;S,标本;α,镜口角。K 聚光器焦点对镜口的张角为镜口角

（二）紫外线显微镜

上述原理表明，可见光的波长限制了显微镜分辨率的提高。根据光学原理，光源光波越短，显微镜的分辨本领越大。波长介于 400nm 与 X 射线之间的辐射称为紫外光或紫外线。紫外线显微镜以紫外线为光源，分辨率可提高一倍，可以看到许多在普通光学显微镜下看不到的胶体颗粒。此外，核酸和有些蛋白质可吸收一定波长的紫外线，因而这种显微镜可用来测定细胞核中的核酸含量。然而，波长越短的紫外线越不易穿透普通玻璃，故必须用以特殊材料，如石英、荧石(CaF_2)、碳酸锂等制成的光学玻璃来制作显微镜透镜。另外，这种显微镜还要求配置有照相装置。因而紫外线显微镜的价格比较昂贵，使用受限。

(三)荧光显微镜

20 世纪 40 年代在紫外线显微镜的基础上发展出了荧光显微镜。细胞中有些物质，如叶绿素等，受紫外线照射后可发荧光；另有一些物质本身虽不能发荧光，但如果用荧光染料或荧光抗体染色后，经紫外线照射亦可发荧光，荧光显微镜可对这类物质进行定性和定量研究（图 2－4）。不同的荧光染料激发后可发出不同的荧光，因此用不同的荧光剂探针对同一标本染色，可使细胞不同成分呈现出不同的颜色（文后彩图 2－5）。



图 2－4　小鼠 2 细胞胚胎经罗丹明染色剂染色后的荧光显微图像

罗丹明 123 对线粒体有专一亲染性，荧光显示出线粒体在细胞中的分布

(四)暗视野显微镜

这种显微镜使照明光线不直接进入物镜，只允许被标本反射和衍射的光线进入物镜，因而视野的背景是黑的，物体的边缘是亮的（图 2－6）。利用这种显微镜能见到小至 5nm 的质点，分辨率比普通显微镜高了 40 倍，有一些细胞器，如核、线粒体，均清晰可见。

(五)相差显微镜

细胞的结构在普通光学显微镜下呈半透明状，不易看清，故往往要将标本切片进行染色，以提高可辨程度。可是除少数活体染料外，大多数染料对活细胞有毒性，因而染色对

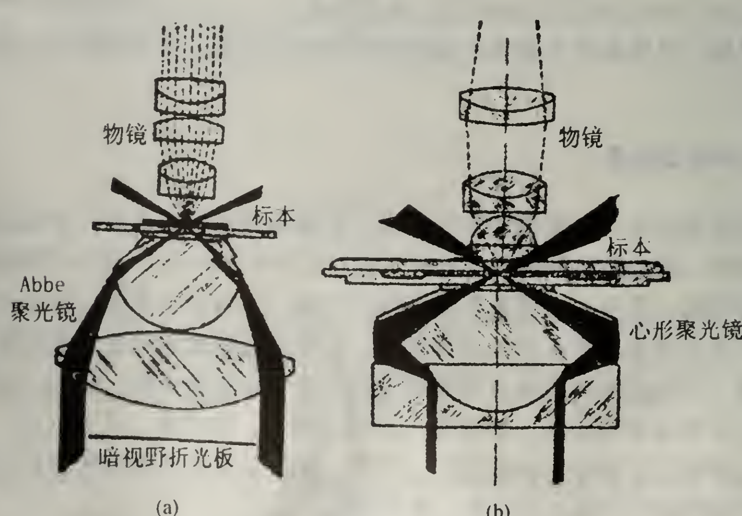


图 2－6　暗视野聚光器的设计原理

(b)图中所设计的聚光器比(a)图之聚光器利用暗视野遮光板更为有效

观察活细胞不适用。为了提高对活细胞的观察效果，则必须提高活细胞结构的反差。为此，荷兰物理学家 F. Zernike 于 1932 年设计成功了相差显微镜（phase contrast microscope），从而解决了这一难题。Zernike 因此项发明而于 1953 年获诺贝尔物理奖。

相差显微镜的基本原理是，把透过标本的可见光的光程差变成振幅差，从而提高了各种结构间的对比度，使各种结构变得清晰可见。光线透过标本后发生折射，偏离了未透过标本的光线的光路，同时被延迟了 1/4λ（波长），从而两组光发生了光程差。如果再增加或减少 1/4λ，则光程差变为 1/2λ，两束光合轴后干涉加强，使细胞结构周围发生晕圈，提高了可见度。由此可见，相差显微镜的设计关键是在标本造成的光程差基础上再附加上 1/4λ 的变化。在构造上，相差显微镜不同于普通光学显微镜之处是，在聚光器或光源上加了一环形光阑（annular diaphragm），在物镜中加了一环形相板（annular phase plate）。光阑的作用是使透过聚光器的光线形成空心光锥，焦聚到标本上。相板上有一环形区，制成凹槽或凸起（亦可涂上特殊物质）。环形区的设计深度（或高度）恰好可使通过此区的光线提前或延后 1/4λ 光程差（图 2－7）。根据设计只有未透过标本的直射光可通过相板环形区，而透过标本的偏折光则由相板其他部分通过。两组光线合轴后发生干涉现象，如果为凹形相板，两组光线合轴后光波相减，振幅变小，形成暗反差（或称正反差），结构比周围介质更加变暗；如果为凸性相板，则两组光波相加，振幅加大，标本结构比周围介质更加变亮，形成亮反差（或称负反差）。由于标本的各种结构的厚度和折射系数不同，在相差显微镜下显示出不同的明暗度（图 2－7）。相差显微镜特别适用于观察活细胞和活组织，因而是体外细胞和组织培养工作不可缺少的工具。

（六）微分干涉差显微镜

1952 年，Nomarski 在相差显微镜原理的基础上发明了微分干涉差显微镜〔differential interference contrast（DIC）microscope〕。DIC 显微镜又称 Nomarski 相差显微镜（Nomarski contrast microscope），其优点是能显示结构的三维立体投影影像。与相差显微镜相比，其标本可略厚一点，折射率差别更大，故影像的立体感更强。DIC 显微镜的物理原理完全不同于相差显微镜，技术设计要复杂得多。首先 DIC 利用的是偏振光。此外，除了物镜外，还增加了四个光学组件：偏振器（polarizer）、DIC 棱镜、DIC 滑行器和检偏器（analyzer）。偏振器直接装在聚光系统的前面，使光线发生线性偏振。在聚光器中则安装了石英 Wollaston 棱镜，即 DIC 棱镜，此棱镜可将一束光分解成偏振方向不同的两束光（x 和 y），二者成一小夹角。聚光器将两束光调整成与显微镜光轴平行的方向。最初两束光相位一致，在穿过标本相邻的区域后，由于标本的厚度和折射率不同，引起了两束光发生了光程差。在物镜的后焦面处安装了第二个 Wollaston 棱镜，即 DIC 滑行器，它把两束光波合并成一束。这时两束光的偏振面（x 和 y）仍然存在。最后光束穿过第二个偏振装置，即检偏器。在光束形成目镜 DIC 影像之前，检偏器与偏光器的方向成直角。检偏器将两束垂直的光波组合成具有相同偏振面的两束光，从而使二者发生干涉。x 和 y 波的光程差决定着透光的多少。光程差值为 0 时，没有光穿过检偏器；光程差值等于波长一半时，穿过的光达到最大值。于是在灰色的背景上，标本结构呈现出亮暗差。为了使影像的反差达到最佳状态，可通过调节 DIC 滑行器的纵行微调来改变光程差，光程差可改

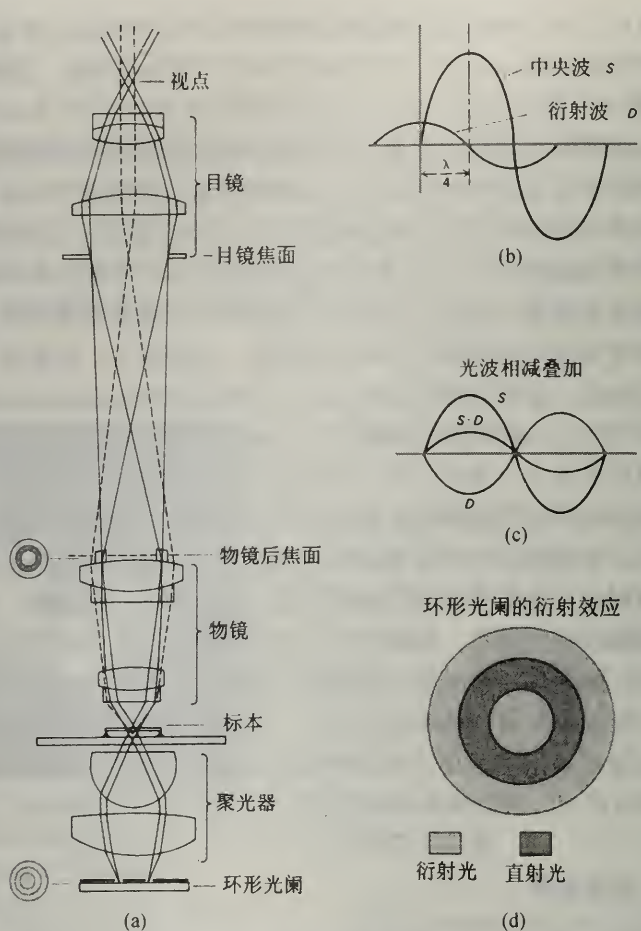


图 2-7　相差显微镜成像原理图

(a)透过标本的衍射光的光程延迟了 1/4λ；(b)相板再将衍射光的光程改变 1/4λ，两组光发生干涉效应，产生暗反差或亮反差影像；(c)光波相减叠加；(d)光经环形光栏后产生衍射效应

变影像的亮度。调节 DIC 滑行器可使标本的细微结构呈现出正或负的投影形象，通常是一侧亮，而另一侧暗，这便造成了标本的人为三维立体感，类似大理石上的浮雕(图 2-8)。

DIC 显微镜使细胞的细微结构，特别是一些较大的细胞器，如核、线粒体等，立体感特别强，适合于显微操作。目前像基因注入、核移植、转基因动物等生物工程的显微操作常在这种显微镜下进行。

进入 20 世纪 80 年代以来，光学显微镜的设计和制作又有了很大的发展，其发展趋势主要表现在，注重实用性和多功能方面的改进。在装配设计上趋于采用组合方式，集普通光镜加相差、荧光、暗视野、DIC、摄影装置于一体，从而操作灵活，使用方便。Nikon E800 显微镜的设计思路即具有这种特色（文后彩图 2-9；文后彩图 2-10）。

二、电子显微镜

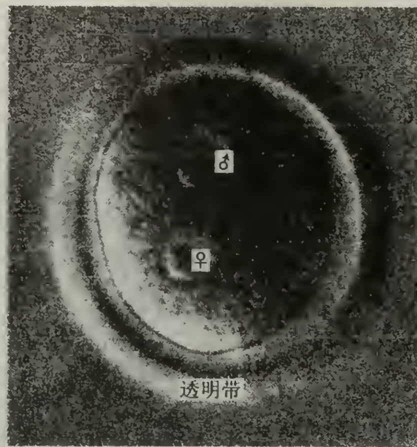


图 2－8　微分干涉差显微镜下的小鼠受精卵影像
♀：雌原核；♂：雄原核

（一）透射电子显微镜

前面已谈过，在光学显微镜下小于0.2μm的一些细微结构，即便是再提高放大倍数也无法看清，这些结构称为亚显微结构（submicroscopic structures）或超微结构(ultramicro-scopic structures；ultrastructures)。要想看清这些结构，就必须选择波长短的光源，以提高显微镜的分辨率。电子束的波长要比可见光和紫外光短得多(表2－2)，电子束的波长与发射电子束的电压平方根成反比，也就是说电压越高波长越短。于是，Ruska便选择了电子束为光源来突破光学显微镜分辨率的极限，发明了透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)。这种电子显微镜与光学显微镜的成像原理基本一样，所不同的是前者用电子束作光源，用电磁场作透镜(图2－11)。另外，由于电子束不能透过玻璃，因此用于电镜的标本须制成厚度仅有0.05μm的超薄切片。这种切片需要用超薄切片机(ultra-microtome)制作。电子显微镜的放大倍数最高可达近百万倍。

表2－2　各种光的波长比较

名　称	波　长(nm)
可见光	760～390
紫外光	390～13
X射线	13～0.05
γ射线	1～0.005
电子束：	
100V	0.123
10 000V	0.0122
100 000V	0.00387

（二）扫描电子显微镜

扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)的功能是用来观察标本的表面形态结构。它是将标本表面上发射出的次级电子，被带阳电荷的栅极收集后，即向电子显像管发送信号，在荧光屏上显示出与电子束同步的扫描图像(图2－12)。图像为立体形象，反映了标本表面的真实结构。为了使标本表面发射出次级电子，标本要进行特殊处理。标本在固定、脱水后，要喷涂上一层重金属微粒，重金属在电子束的轰击下发出次级电子信号。

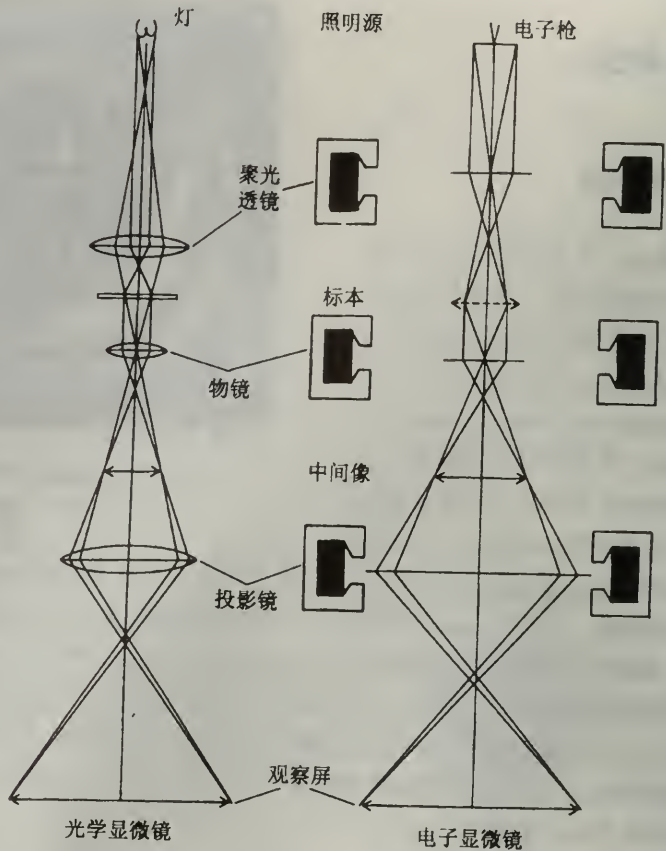


图 2－11　透射电子显微镜成像光路图解



图 2－12　扫描电镜下的杂交瘤细胞表面
细胞处于胞质分裂阶段(樊廷俊等　1993)

(三)扫描隧道显微镜

扫描隧道显微镜 (scanning tunneling microscope, STM)是用来显示晶体表面原子布阵的一种显微镜。它是根据量子力学原理中的隧道效应而设计制造的，其关键部件是有一个加上一定电压的精密探针。探针接近物质时,由于“隧道效应”而有电子飞出，从而在探针与物质之间有电流通过。当探针沿物质表面扫描时,因表面原子凹凸不平，使探针与物质表面间的距离不断发生改变，从而引起电流不断发生改变。将电流的这种改变图像化，即可显示出原子水平的凹凸形态。扫描隧道显微镜的分辨率很高,横向为 0.1～0.2nm,纵向可达 0.001nm。它的

优点是，三态（固态、液态和气态）物质均可进行观察，而普通电镜只能观察制作好的固体标本。

扫描隧道显微镜在生物学研究中可发挥很重要的作用，它能直接观察生物大分子，如 DNA、RNA 和蛋白质等分子的原子布阵，也能观察一些生物结构，如生物膜、细胞壁等的原子排列。它的使用有助于把生物学研究推进到纳米科学水平。扫描隧道显微镜是由 Binnig, Rohrer 等于 1981 年发明的，此二位学者因此项发明而荣获 1986 年诺贝尔奖。

（四）冰冻蚀刻

冰冻蚀刻（freeze-etching）亦称冰冻断裂（freeze-fracture），是为配合透射电镜观察而设计的一种标本制作技术。它是研究生物膜内部结构的一种有用的技术，关于膜结构的许多资料即是利用这种方法取得的。标本的制作过程是，首先将标本固定在标本台上，于 -100℃ 的干冰中或 -196℃ 的液氮中，进行超低温冰冻。然后用冷刀骤然将标本冲断开，升温后，冰在真空条件下迅即升华，暴露出了断裂面的结构（图 2 - 13）。冰升华暴露出标本内部结构的步骤称为蚀刻（etching）。蚀刻后，再向断裂面上喷涂一层蒸汽碳和铂。然后将组织溶掉，把碳和铂的膜剥下来，此膜即为复膜（replica）。复膜显示出了标本蚀刻面的形态，可置于电镜下观察。电镜下的影像即代表标本中细胞断裂面处的结构（图 2 - 14）。

根据某些学者（Branton, D. et al. 1975）的建议，将冰冻断裂处理后的生物膜各个面规定了统一的命名符号："P"代表面向原生质（protoplasm）的一面；"E"代表背向原生质的面；"F"代表断裂后暴露出的面，因而"PF"即为朝向原生质的断裂面（protoplasm fracture face）；"EF"面便是背向原生质的断裂面（exoplasm fracture face）。

冰冻断裂技术也是研究细胞内部各种细胞器结构的有用手段。

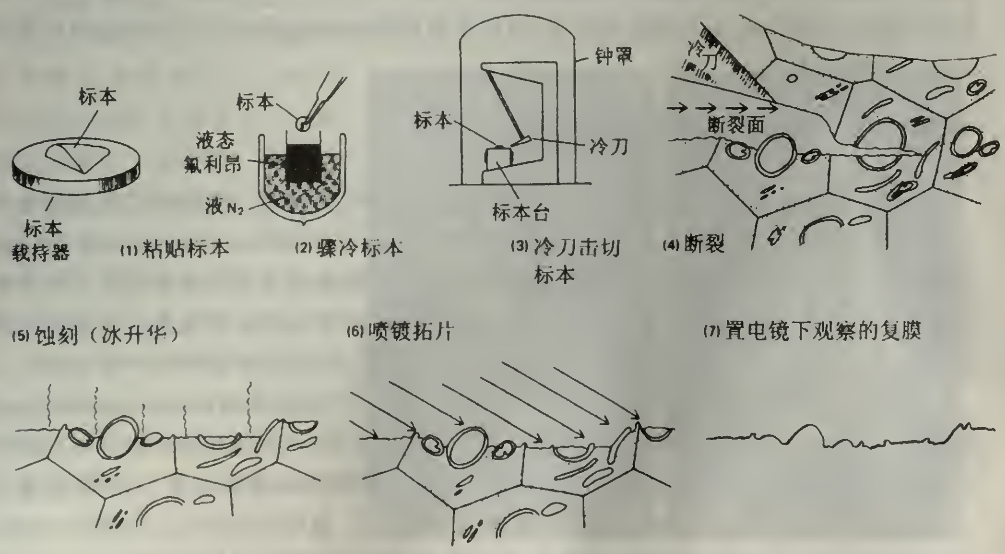


图 2 - 13　质膜冰冻断裂技术操作过程图解（仿 Branton, D. and Deamer, D. W. 1972）



图 2－14　细胞冰冻断裂后的电镜图像

C. W. 细胞壁；G. 高尔基体；N. 细胞核；N. E. 核被膜；N. P. 核孔复合体；V. 液泡

第二节　生物化学分析

现代细胞生物学发展是靠形态观察结合生物化学研究来推动的，可以说没有生物化学的发展也就没有现代细胞生物学，因此从事细胞生物学研究不可不对生物化学技术给予足够的重视。

一、细胞化学和组织化学技术

细胞一般是无色透明的，为了对某些细胞成分进行定性和定位研究，可依据化学反应原理，采用组织化学和细胞化学染色方法（histochemical and cytochemical staining method）加以显示。细胞化学染色是利用染色剂可同细胞的某种成分发生反应而着色的原理，从而得以对某种成分进行研究和分析。利用这种方法对细胞的各种成分几乎都能显示，包括有无机物、醛、蛋白质、糖类、脂类、核酸、酶等各种组织化学显示法。

最典型的组织化学显示法是对 DNA 的 Feulgen 反应显示法（Feulgen reaction）。此法是在 1924 年由 Feulgen 和 Rossenbeck 二位学者所发明，对 DNA 的反应具有高度专一性。其原理是，标本经稀盐酸水解后，DNA 分子中的嘌呤碱基被解离，从而在核糖的一端出现了醛基。Schiff 试剂中的无色品红与醛基反应，呈现出紫红色。这是由于反应后形成的化合物分子中有醌基，醌基为发色团，呈紫红色（图 2－15）。

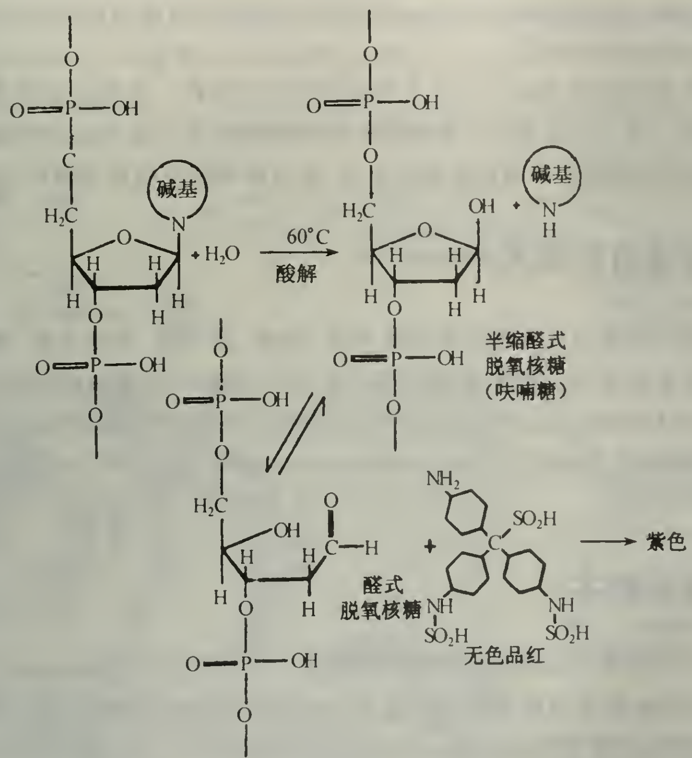


图 2－15　Feulgen 反应的化学原理

酸解去掉 DNA 分子中的嘌呤碱基，暴露出醛基，无色品红同醛基反应，呈现出紫红色

二、免疫细胞化学

免疫细胞化学（immunocytochemistry）是根据免疫学原理，利用抗体同特定抗原专一结合，对抗原进行定位测定的技术。抗原主要为大分子或与大分子相结合的小分子；抗体则是由浆细胞针对特定的抗原分泌的 γ 球蛋白。如果将抗体结合上标记物，再与组织中的抗原发生反应，即可在光镜或电镜下显示出该抗原存在于组织中的部位。常用的标记物有荧光素和酶。标记荧光素的称为免疫荧光法（immunofluorescent technique）（图 2－16），常用的萤光素有异硫氰酸荧光素（fluorescein isothiocyanate）、罗丹明（rhodamine）等。标记酶的称为酶标免疫法（enzyme-labelled antibody method），常用的酶有

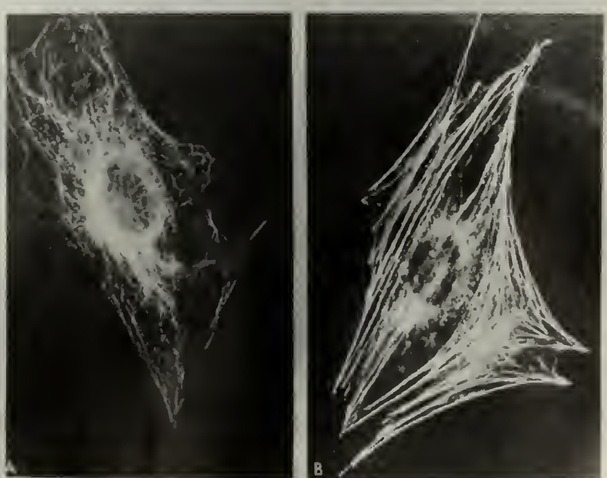


图 2－16　用免疫荧光法显示微管和微丝在细胞中的分布

培养的 3T3 细胞用带有荧光素的抗微管蛋白做免疫荧光染色后所显示出的微管（A）和微丝（B）分布状态（自 Osborn，M. and Weber，K. 1976）

辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase），酶与底物发生反应后形成不透明的沉积物，从而显示出抗原存在的部位。

抗体与抗原的结合方法可分为直接法和间接法两种，直接法是将带有标记的抗体与抗原反应，显示出抗原存在的部位。而间接法则是在抗体抗原初级反应的基础上，再用带标记的次级抗体同初级抗体反应，从而使初级反应得到放大，显示增强。

三、显微光谱分析技术

细胞中有一些成分具有特定的吸收光谱，核酸、蛋白质、细胞色素、维生素等都有自己特征性的吸收曲线。例如，核酸的吸收波长为260nm，而蛋白质的则为280nm。有的成分经组织化学染色后，对可见光有特定的吸收光谱。根据细胞成分所具有的这种特性，可利用细胞分光光度计（cytospectrophotometer）对一定的成分进行定位、定性，甚至定量测定。

四、放射自显影术

放射性同位素发射出的各种射线具有使照相乳胶中的溴化银晶体还原（感光）的性能。利用放射性物质使照相乳胶膜感光，再经显影以显示该物质自身的存在部位的技术，称为放射自显影术（radioautography; autoradiography）。如果设法把组织中的某种化合物标记上放射性同位素，那么组织切片被涂上乳胶后，经一定时间的放射性暴光，组织中的放射性即可使正上方的乳胶感光。然后经过显影、定影处理，切片即可显现出被还原的黑色银颗粒，颗粒的位置基本上与放射性同位素标记物质的位置相吻合（图 2-17）。必要时，放射自显影的切片还可再用染料染色，这样便可在显微镜下对标记上放射性的化合物进行定位或相对定量测定。

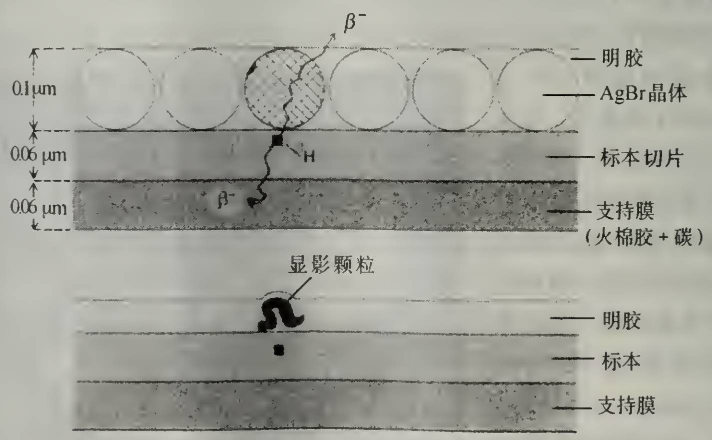


图 2－17　放射自显影造影原理图解

这种技术与电镜技术结合，则为电镜放射自显影。

由于有机大分子均含有碳、氢原子，故实验室一般常选用 ^{14}C 和 ^{3}H 标记。^{14}C 和 ^{3}H 均为弱 β 放射性同位素，半衰期长，^{14}C 为 5730 年，^{3}H 为 12. 5 年。一般常用 ^{3}H 胸腺嘧

啶脱氧核苷来显示 DNA,用 ^3H 尿嘧啶核苷显示 RNA。在研究蛋白质和粘多糖时,则分别选用 ^3H 氨基酸和 ^3H 甘露糖、^3H 岩藻糖等(图 2-18)。

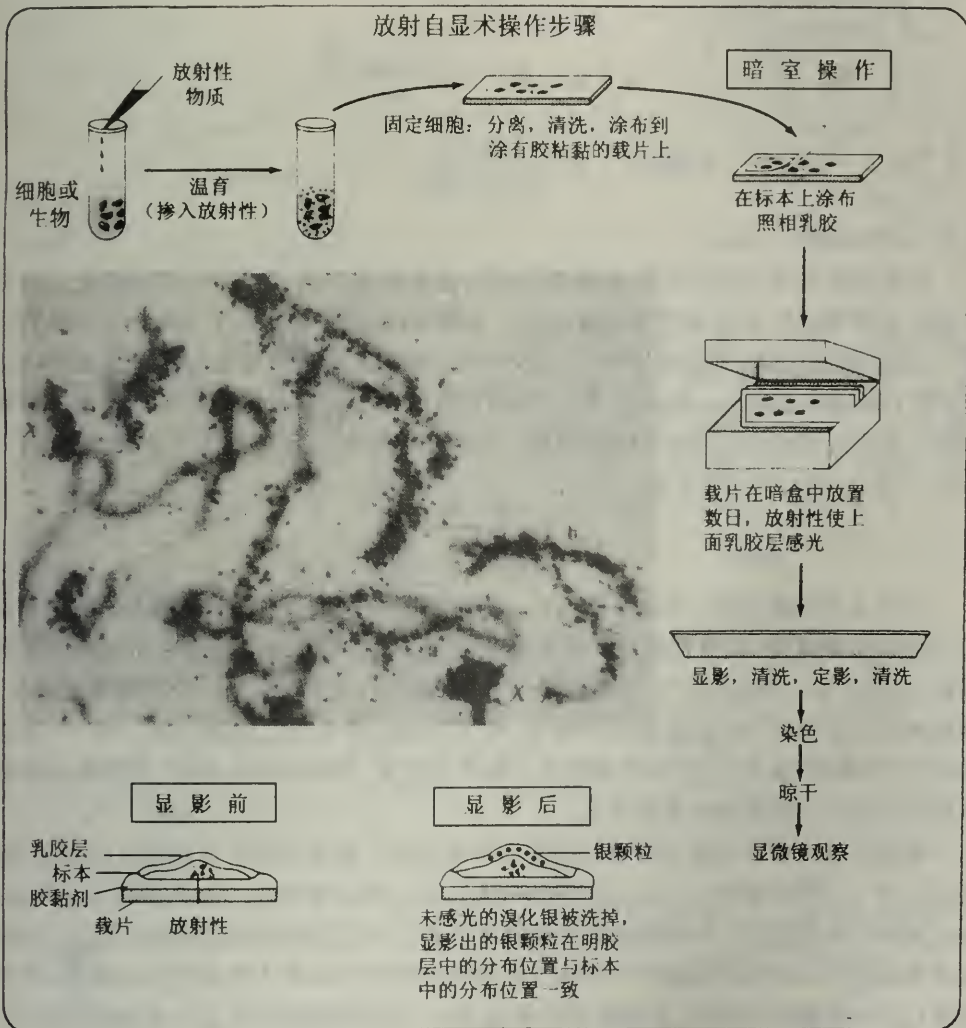


图 2-18　^3H 胸腺嘧啶核苷放射自显影操作过程和显示细胞中的 DNA 分布的显微照片

五、超离心技术

离心是研究亚细胞成分和生物大分子的基本手段。要研究细胞的各中结构和成分的化学性质和生理功能，就需要将它们加以分离和抽提。细胞匀浆后，悬液中含有各种细胞器，如细胞核、线粒体、高尔基体、溶酶体和微体，以及各种大分子。要想把它们一一分离开，只靠普通低速离心机是做不到的。1924 年瑞典科学家 Svedberg 发明了世界上第一台分析超速离心机(analytical centrifuge)，他用这台离心机测得血红蛋白的分子量为 68 000。按一般概念，转速为 10 000～25 000r/min 的离心机称为高速离心机；转速超过 25 000r/min，离心力大于 89 000g 者称为超速离心机。目前超速离心机的最高转速可达 80 000r/min，离心力超过 500 000g。被离心的物质所受的离心力不仅与转速有关，而且还同物质到转头中心的距离有关。

因此要准确表示离心条件要用离心力，而不单是转速。因为被离心的物质的沉降速度与离心力直接有关。离心力(g)是由角速度和旋转半径（R）的大小决定的，单位为 g，计算公式如下：

$$g = \omega^2 \cdot R, \quad \omega = \frac{2\pi n}{60},$$

$$g = \frac{(2\pi n)^2}{3600 \times 980} \cdot R$$

式中 n 表示转速(r/min)。

各种颗粒在离心场中的沉降速度不同，这取决颗粒的大小、形状和密度，也与离心力以及悬液介质的密度和黏度有关。当颗粒受到的净离心力（离心力与浮力之差）与溶剂的摩擦阻力达到平衡时，单位离心场强度的沉降速度为定值，此即为沉降系数(sedimentation coefficient，S)。沉降系数可作为大分子沉降速度的量度，各种颗粒、蛋白质均各具有一定的沉降系数。沉降系数的数值可通过下一公式计算出：

$$S = \frac{dr/dt}{\omega^2 r}$$

式中 S 为沉降系数，单位为秒(s)；r 为沉降颗粒到转头中心的距离(半径)，单位为 cm；ω 为角速度，以每秒转动的弧度表示；t 为时间，以秒表示。蛋白质的沉降系数都在 1×10^{-13}s～200×10^{-13}s 的范围内，于是便确定 1×10^{-13}s 为一个沉降系数单位，用超离心机发明家 Svedberg 的名字命名，即 Svedberg 单位(S)。因而 200×10^{-13}s 即为 200S。如果溶剂、温度一定，则 S 值取决于物质的重量、形状和水化程度，某些亚细胞成分和大分子的大小常用 S 值来表示。

细胞匀浆中的各种成分可通过超离心分离开来。根据分离的对象和目的不同，超离心技术可分为制备离心（preparative cetrifugation）和分析离心（analytical centrifugation）两类。前者是用于制备和纯化亚细胞成分和大分子，目的是制备样品(图 2－19)；后者则是用于分析和测定制剂中的大分子的种类和性质如浮力密度和分子量等。当分析蛋白质的种类和性质时，首先要进行制备离心，分离和抽提出准备分析的颗粒组分，然后加以分解，再进行分析离心测定。

真核细胞被破碎后，内质网、高尔基体、内吞体(内体)、线粒体和质膜的碎片可自然卷曲成小膜泡，这些小泡称为微粒体(microsome)。其中，外表面附着有核糖体的糙面微粒体来源于糙面内质网，去除样品中的光面微粒体后，糙面微粒体是用于研究糙面内质网功能的良好材料。

六、分子杂交技术

分子杂交技术(molecular hybridization)是在研究 DNA 分子复性变化基础上发展起来的一种技术。其原理是，具有互补核苷酸序列的两条单链核苷酸分子片段，在适当条件下，通过氢键结合，形成 DNA-DNA，DNA-RNA 或 RNA-RNA 杂交的双链分子。这种技术可用来测定单链分子核苷酸序列间是否具有互补关系。根据此原理，在不破坏细胞或细胞器的情况下，用核酸探针检测特定核苷酸序列在染色体上的精确位置的技

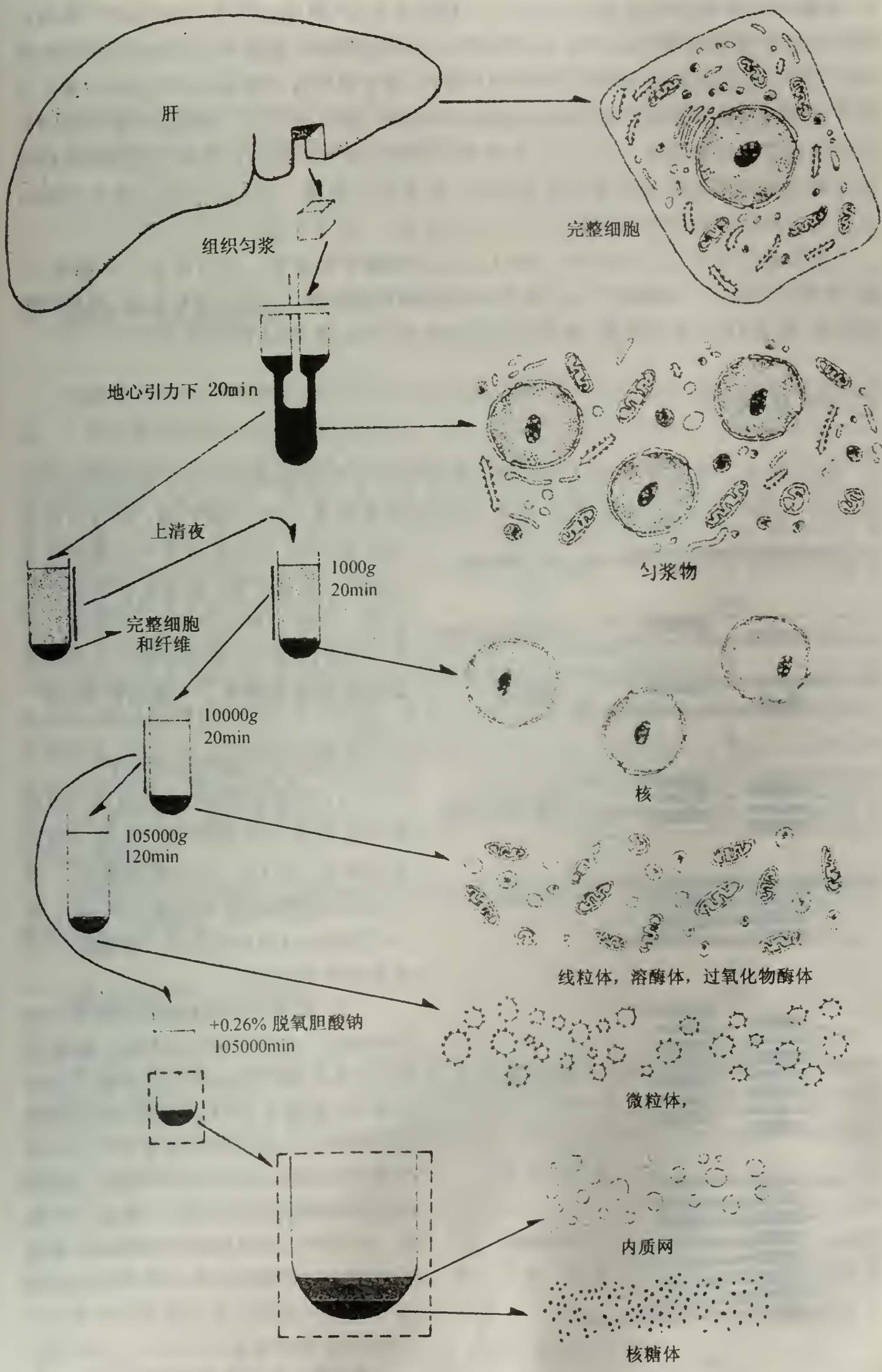


图 2-19 制备离心过程示意图

术,称为原位杂交(*in situ* hybridization)。染色体在高 pH 值条件下,DNA 解链,带标记的核酸探针即刻与染色体一定部位杂交。这种方法既可检测 DNA 序列，也可检测 RNA 序列。最初是使用带放射性的 DNA 探针,通过放射自显影来显示位置。后来又发明了免疫探针法，将探针核苷酸的侧链加以改造，探针杂交后，其侧链可被带有荧光标记的抗体或配体所专一识别,从而显示出位置。这种方法的优点是,可用多种 DNA 探针和带不同荧光标记的多种抗体对同一标本进行检测，于是可在同一标本中同时显示出多种核苷酸序列的位置。

原位杂交也可定位显示专一 RNA 分子在细胞中的分布。其方法是，不提高 pH 值,使染色体处在一般酸度下,这样 DNA 仍保持双链结构,不能与探针杂交。将组织略加固定,则 RNA 在原位暴露,即可同与之互补的 DNA 或 RNA 探针杂交。

七、PCR 技术

近几年来，根据双链 DNA 的变性与复性和分子杂交原理设计出了聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术,目的是将极微量 DNA 大量扩增。此技术的原理是将 DNA 片段经过若干次解链和复性循环，大量扩增，甚至可扩增到十几亿倍，以便于对已知 DNA 片段进行分析，如基因分析、序列分析、进化关系分析和临床诊断等。一般可扩增 $10^6 \sim 10^7$。

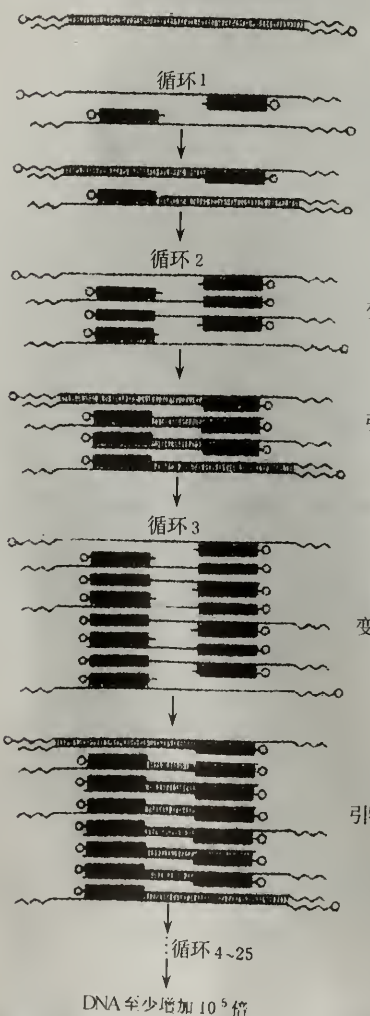


图 2-20　DNA 扩增的 PCR 技术原理图解

PCR 技术的基本操作过程如下:

(1) 选择基因组 DNA 的某一片段按片段中某一已知序列，合成一对寡核苷酸链(约 18~20 个核苷酸长)，此一对寡核苷酸链称为引物(primer)，每一引物各与 DNA 片段中一股链的一定核苷酸序列互补。

(2) 将 DNA 片段样品溶解于反应缓冲液中，加入 4 种 dNTP 和一种耐高温的 DNA 聚合酶。将反应液置于 PCR 仪中，提高温度(约 94℃)使 DNA 的两股链解离，立即下降温度至 37~55℃，使引物与模板链互补序列结合，并使 *Taq* DNA 酶结合到引物 3′端上。升温至 70~75℃，DNA 聚合酶催化掺入单核苷酸，引物沿模板链互补延伸，形成双链 DNA。如此反复升降温若干次，每一次解链和合成互补链为一个循环。为了使 DNA 片段扩增到所需的量，大约要进行 20~30 次循环(图 2-20)。

此技术获得成功的关键是找到了

抗高温性的 DNA 聚合酶。此酶是从一种嗜热水生菌（*Thermus aquaticus*）中分离出来的，命名为 *Taq* DNA 聚合酶。此酶最适作用温度为 75～80℃，但短时间在 95℃下仍能不失活。经过 PCR 获得的大量 DNA 片段都是以原有的微量 DNA 片段为模板扩增而来，故此技术亦称为分子克隆技术（molecular cloning）。在此处所谓的克隆（clone）仅是指由母模板扩增之意，与无性繁殖毫不相关。

第三节 细胞生理学技术

一、膜电位检测技术

细胞的质膜内外两侧由于阳离子浓度不同而形成了浓度梯度差，通常是外高内低，从而在质膜两侧造成一定的电位差，这一电位差即称为膜电位（membrane potential）。膜电位的大小因细胞种类不同而异，范围在 －20～－100mV 之间。用负值是表示，膜内与膜外相比为负。膜内外阳离子浓度差是由于膜的主动和被动运输造成的（参见第四章），故膜通透性的改变可引起膜电位的变化。膜电位的变化反映了细胞的生理变化，测定膜电位的数值可作为细胞生理状态的一个指标。在神经传导和肌肉收缩运动中膜电位的变化起着极其重要的作用。

由于细胞体积微小，因此要使用极其微细的电极进行测量，这种电极称为微电极（microelectrode）。微电极是由用玻璃毛细管拉制成的细管和管腔中插入一条金属丝组合而成。微电极管内充有电解质溶液，通常为 KCl 水溶液；插入的电极是一条镀有氯化银的银丝。用于插入细胞中的微电极的直径不超过 1μm。微电极通过导线与示波器或大电位计相连。测量时使用一对微电极，一个插入细胞内，另一个置于细胞外的介质中，这样即可显示或记录膜电位的变化。例如利用这种方法可测得神经细胞的静息电位和动作电位。

微电极技术也可用于测量细胞内局部的某种离子浓度，进行这种测量时两个微电极都要插入细胞内。

二、膜片钳位记录技术

离子是通过膜上的由通道蛋白构成的亲水小孔（离子通道）进出细胞。为了检测单个特定离子通道的性质和部位，德国马普研究院的 Neher 和 Sakmann 经过长期合作研究，于 1976 年研制成功了可检测极低浓度的无机离子通过膜通道的技术，即膜片钳位记录技术（patch-clamp recording）。“clamp”一词是钳制之意，指将膜片两侧的电位固定为一定数值。此技术是在膜电位技术基础上设计的，其主要技术关键是可记录通过细胞微小质膜片段的微弱电流（～10^{-12}PA）。检测时，用内径约为 1μm 的玻璃管电极将细胞质膜紧紧吸住，或拉下来，以测定进入管内的离子的种类和数量，从而表明离子通道的性质和功能 。单个离子通道的直径约为 0.5～0.6nm，膜电位的变化可引起离子通道的开启或关闭，膜片钳位技术能检测出这种变化（图 2－21）。

有些疾病与离子通道失常有关，例如胆囊炎（氯离子通道）、癫痫（钠离子和钾离子通道）、心血管病（钙离子通道）和神经失常（钙离子通道）。因此，膜片制导技术对许多因离子通道失常而引起的疾病的诊断和治疗有着重要的应用价值。现在已根据该技术

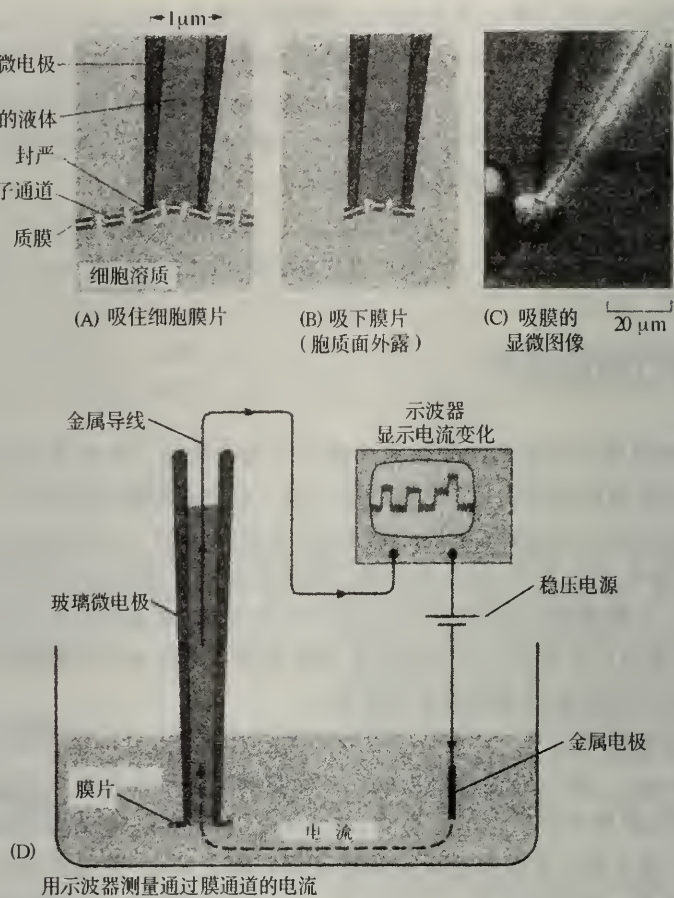


图 2－21　膜片钳技术操作过程示意图

的理论和技术研制出了许多有效的药物。

Neher 和 Sakmann 因此发明项技术而获得 1991 年诺贝尔奖。

三、细胞电泳

细胞表面带有许多荷电基团，有的为正电荷，有的为负电荷，正负相抵总静电荷为负值，因而细胞在悬液中总是向电场的正极移动，细胞在外加电场的作用下发生泳动的现象称为细胞电泳(cell eletrophoresis)。引起细胞电泳的电位值称为 ζ 电位。各种细胞或处于不同生理状态的同种细胞荷电量有所不同，故在一定的电场中的泳动速度不同。在恒定的电场条件下，同种细胞的电泳速度相当稳定，因而可通过测定电泳速度来推算出细胞的 ζ 电位。细胞电泳装置即是根据这种原理设计出来的(文后彩图 2-22)。测量的基本方法是，将一种细胞悬液注入一带刻线的方玻璃毛细管中，管的两端连上电极，启动电源，加上一定的直流电压(如 40V)。在显微镜下通过方格目微尺测量细胞在电场中的泳动速度，据此计算出细胞表面的 ζ 电位数值(见第四章)，从而推导出细胞表面的性质变化。ζ 电位在诊断疾病上有一定价值。此外由于细胞在电场中的泳动速度不同，细胞电泳尚可用来分离不同种类的细胞，例如可把淋巴样细胞与造血细胞分开。

第四节 实验操作技术

此部分主要介绍几种为了其他实验目的而对细胞整体或局部进行手术处理的技术，这些技术在细胞工程领域中有很重要的应用价值。

一、细胞培养

高等生物是由多细胞构成的整体，在整体条件下要研究单个细胞或某一群细胞在体内（*in vivo*）的功能活动是十分困难的。显然，如果把活细胞拿到体外进行活体培养（*in vitro*）来观察和研究，则要方便得多。活细胞离体后要在一定的生理条件下才能存活和进行生理活动，特别是高等动植物细胞要求的生存条件极其严格，稍有不适就要死亡。因此，要进行体外细胞培养，就要尽可能满足细胞在正常体内生理状态下的各种条件，其中选择最佳培养基是关键因素。细胞培养技术（cell culture）或称组织培养技术即是选用各种最佳生存条件对活细胞进行培养和研究。

动物细胞的生存环境与植物细胞差别很大，因而二者的培养方法很不相同。

（一）动物细胞培养

组织培养工作开始于20世纪初，Harrison（1907）取两栖类胚胎神经管组织进行悬滴培养，神经细胞一直存活了许多天，他观察到神经细胞分化成了神经元，伸出了轴突。于是证明了神经纤维是由神经细胞长出来的，而不是由一些细胞融合而成，这就是所称的“神经元学说”（neuronal doctrine）。然而真正开创大规模细胞培养工作是在20世纪40年代，W. Earle和R. Dulbecco设计出了细胞培养液配方，并将组织分散成单个细胞进行悬液培养，从而使细胞培养工作得以广泛展开。

细胞培养方式大致可分为两种：一种是群体培养（mass culture），将含有一定数量细胞的悬液置于培养瓶中，让细胞贴壁生长，汇合（confluence）后形成均匀的单细胞层；另一种是克隆培养（clonal culture），将高度稀释的游离细胞悬液加入培养瓶中，各个细胞贴壁后，彼此距离较远，经过生长增殖每一个细胞形成一个细胞集落，此种集落即称为克隆（clone）。一个细胞克隆中的所有细胞均来源于同一个祖先细胞。此外，为了制取细胞产品而设计了转鼓培养法，使用大容量的圆培养瓶，在培养过程中不断地转动，使培养的细胞始终处于悬浮状态之中而不贴壁。

针对不同种类的细胞，学者们设计出了许多细胞培养基配方，目前使用比较广泛的化学合成培养基（chemically defined medium），如TC-199和RPMI-1640等。但是在工作中要针对不同的培养对象来选择最适培养基，培养基选择恰当与否是细胞培养是否成功的关键。在细胞培养工作中，有几种因素需要特别关注：①细胞所需要的营养成分要尽量予以满足；②要保持适当的渗透压；③严格控制pH值；④添加细胞所需的生长因子。为了满足细胞生长所需的一些营养条件，常在培养液中加入适量的血清（补充生长因子）。然而血清的来源有限，而且血清的成分复杂，影响实验结果的分析，因而近来研究出无血清培养技术。

通过细胞培养，世界上已建立了大量细胞株或系（表2-3）。正常组织的初级培养

表 2-3　目前实验室中常用的几种细胞系

细胞系名称	细胞类型和来源
3T3	成纤维细胞(小鼠)
HeLa	宫颈癌上皮细胞(人)
BHK21	成纤维细胞(叙利亚仓鼠)
P tK1	上皮细胞(袋鼠)
L6	成肌细胞(大鼠)
PC12	嗜铬细胞(大鼠)
SP2	浆细胞(小鼠)
SP2/0	骨髓瘤浆细胞(小鼠)
CHO	卵巢细胞(中国地鼠)

物，细胞传代培养的寿命有一定的限度，只有癌细胞和发生转化的细胞才能无限生长下去。所谓转化即是指正常细胞在某种因子的作用下发生突变而具有癌性的细胞。目前世界上许多实验室所广泛传用的 HeLa 细胞系，即是在 1951 年从一位名叫 Henrietta Lacks 的妇女身上取下的宫颈癌细胞培养而成，故名。此细胞系一直延用至今。迄今我国业已建立了上百个细胞系，为细胞生物学和医学做出了重大贡献。细胞培养在细胞生物学中是一项极为重要的实验技术，也是生物工程中不可或缺的重要手段。细胞生物学中有大量的生理生化方面的研究成果，即是通过细胞培养再结合其他技术取得的。细胞培养方面有几个重要的基本概念需要加以介绍，以便于应用。

—外植体(explant)：取自成体或胚胎用于体外培养的组织和细胞群。多用于植物组织培养。

—原代培养物(primary culture)：从机体，特别是从幼小动物机体取出的组织进行培养的细胞群，一般是指分裂 10 代以内的细胞群。

—细胞株(cell strain)：通过选择法或克隆法从原代培养细胞群中筛选出的具有特定性质或标志的细胞群，在培养过程中其特征始终保持。

—细胞系(cell line)：来源于原代培养物和培养过程中发生突变或转化的细胞，在培养条件下可无限生长增殖的细胞群；从肿瘤组织培养建立的细胞群。

—克隆(clone)：亦称无性繁殖系或简称无性系。是由单一祖先通过无性繁殖方式产生的遗传性一致的后代群体。克隆的概念既可用于生物群体，也可用于细胞群体。对细胞来说，克隆是指由同一个祖先细胞通过有丝分裂产生的遗传性状一致的细胞群。随着学科的发展，克隆的概念不断有所延伸，使用的也越来越广泛。现今在分子生物学中也广泛使用，把由同一分子或分子片段为模板扩增出的群体称为分子克隆。由于克隆一词使用频率越来越高，而且尚演绎为动词和形容词，因此很有必要给以恰当的中文意译词。英文 clone 直接音译为“克隆”不如用汉文意译为“模殖”，这一译名更容易被理解和接受。模殖不仅可用于分子，而且对细胞和生物体亦适用，即是指由一个母体为模板扩增出大量完全一模一样的子体群(分子群、细胞群或个体群)。这样，把“克隆羊”改称为“模殖羊”就不必费太多口舌来解释名词了。

（二）植物细胞培养

植物细胞培养最明显的特点是：①可进行组织培养，由外植体生长出植株；②不易无限传代和建立细胞株。植物细胞培养大体有如下几种技术。

(1)外植体培养，诱发产生愈伤组织。如果条件适宜，尚可培养出再生植株。用于研究植物的生长发育、分化和遗传变异；进行无性繁殖；制取代谢产物。

(2)悬浮细胞培养。在愈伤组织培养技术基础上发展起来的一种培养技术。适合于进行产业化大规模细胞培养，制取植物代谢产物。

(3)原生质体培养。脱壁后的植物细胞称为原生质体(protoplast)，其特点是：①比较容易摄取外来的遗传物质，如 DNA；②便于进行细胞融合，形成杂交细胞；③与完整细胞一样具有全能性，仍可产生细胞壁，经诱导分化成完整植株。

(4)单倍体培养。通过花药或花粉培养可获得单倍体植株(图 2－24)。我国在花药培养技术领域的研究和应用处于国际领先行列。花药培养可改变花粉的正常发育途径，从而产生愈伤组织或胚状体，进而培养成单倍体植株。花粉培养则比花药培养更具优越性，它可避免在培养中混杂有花药中的二倍体细胞，从而可获得很多花粉植株。

二、显微操作技术

由于细胞体积微小，要直接靠肉眼用手对细胞进行手术操作和解剖极其困难，有的甚至根本无法进行。为了解决这一困难，便设计发明了显微操作装置。所谓显微操作术 (micromanipulation) 就是在显微镜下，用显微操作装置对细胞进行解剖手术和微量注射的技术。现在显微操作装置的设计越来越精密，已经有可能对细胞核进行解剖和注入微量物质(如核酸分子片段)(文后彩图 2-25)。 转基因动物的制作中，常用显微操纵仪向受精卵中注入目的基因，使基因整合到受精卵基因组中，转入基因的受精卵经孕育发育成转基因动物。

三、细胞融合

真核细胞通过介导和培养，两个或多个细胞合并成一个双核或多核细胞的过程称为细胞融合 (cell fusion) 或细胞杂交 (cell hybridization)。基因型相同的细胞融合成的杂交细胞称为同核体 (homokaryon)；来自不同基因型的杂交细胞则称为异核体 (heterokaryon)。目前诱导细胞融合的方法有四种：病毒、聚乙二醇 (PEG)、电激和激光。副黏病毒科的病毒，如副流感病毒和新城鸡瘟病毒，在其被膜中有两种糖蛋白。较大的一种具有黏附细胞和凝血的作用；较小的一种称为融合蛋白 (fusion protein)，可介导病毒同宿主细胞融合，也可诱导细胞与细胞融合。人工利用病毒诱导细胞融合即是利用病毒的这一特性。使用时先用紫外线将病毒灭活，稀释到一定浓度加入到细胞悬液中，离心，诱导细胞融合。而后两种方法则是利用化学和物理手段，暂时使质膜脂类分子的有序排列发生改变，待去掉作用因素之后，质膜恢复原有的有序结构，在恢复过程中便可诱导相接触的细胞发生融合(图 2－26)。

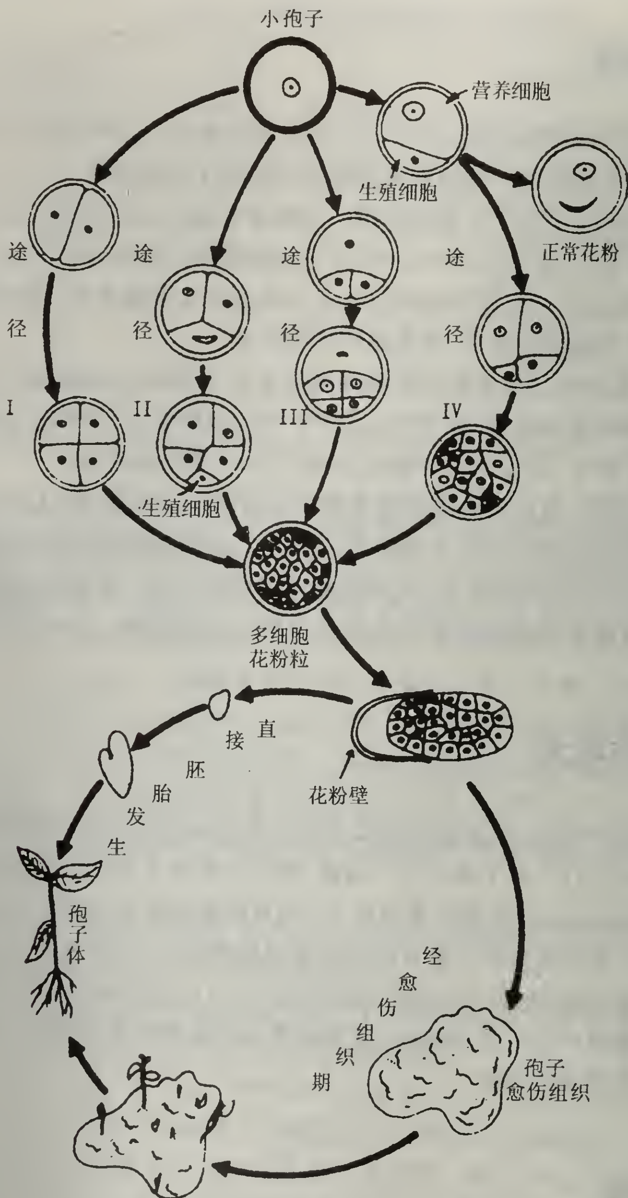


图 2－24　花粉和花药培养诱导雄核发育和产生单倍体植株的过程示意图

细胞融合不仅可用于基础研究，而且还有重要的应用价值，如制取单克隆抗体和植物育种等，我们将在“细胞工程”一章中予以介绍。

四、染色体分析技术

(一)核型分析

真核生物中染色体的数量和形态具有物种的特异性，迄今一直可依此作为物种分类的基本依据之一。将体细胞核中的全部染色体的显微图像按照大小、着丝粒位

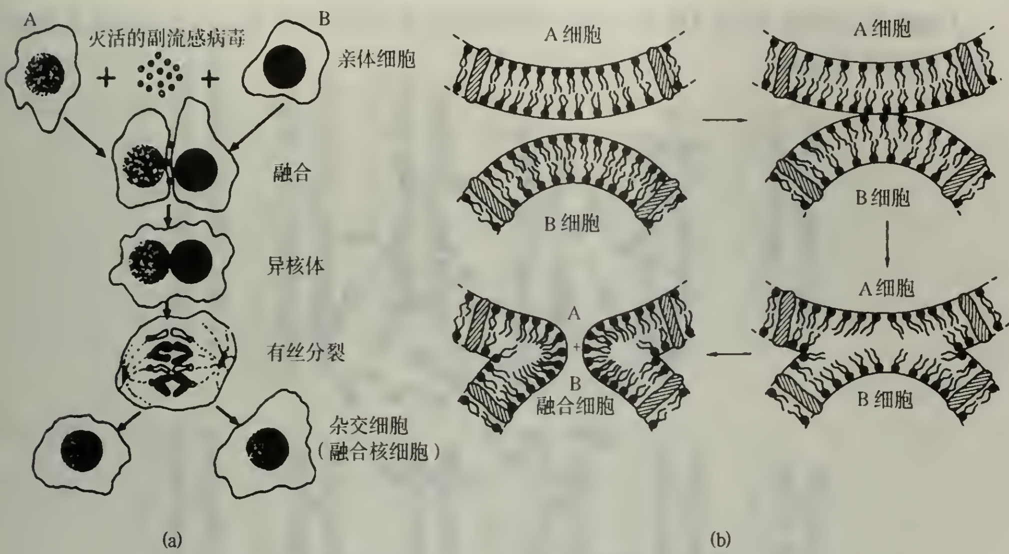


图 2-26 细胞融合过程中质膜重组合并为一个细胞的示意图

(a)A、B 两细胞在病毒介导下相互融合的过程;(b)细胞融合时,质膜融合部位脂双层结构变化示意图

置,以至带型有序地排列起来,此图像排列即称为核型(karyotype)或染色体组型。核型分析都是以中期染色体为准。其制作过程一般是首先用秋水仙素抑制纺锤丝的形成,使中期染色体停留在赤道面处;然后用低渗法将细胞胀破,使细胞的染色体铺展到载片上;最后将染色体的显微图像剪裁排列即成(图 2-27)。

这一技术为华裔学者徐道觉所首创。华裔学者蒋有兴 (Joe Hin Tjio) 和瑞典学者 A. Levan 合作,利用徐道觉所创用的低渗法研究胎儿肺组织,终于在 1956 年首次确定

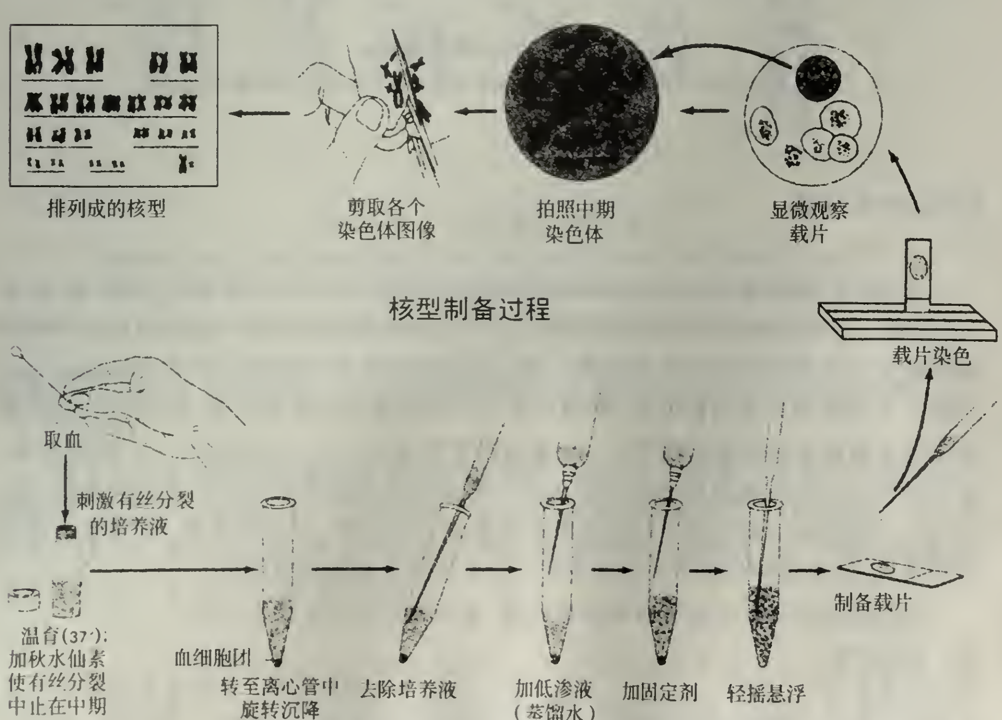


图 2-27 利用淋巴细胞或成纤维细胞制备人类染色体核型操作过程示意图

了人类染色体数是 46 条（图 2－28），而不是前人所主张的 48 条，这为后来的人类核型研究奠定了基础。

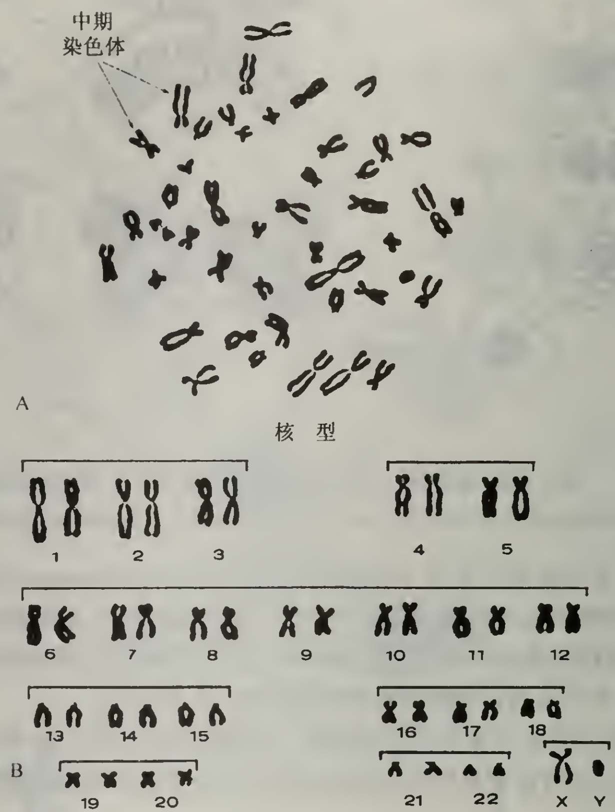


图 2－28　人体体细胞核型

A. 制备好的人体二倍体染色体组；B. 将染色体组图片经剪裁，依序排列成核型

(二)染色体分带

染色体分带技术(chromosome binding)(1969)也是美籍华人学者徐道觉(T. C. Hsu)首先创用。利用一定的染色方法可显示出染色体上有一定排列顺序的明暗相间的带，带的排列方式称为带型，每一染色体均各具有特定的带型（banding pattern)。根据带型可鉴别染色体，例如人类的 C 组染色体形状很相似，可是经分带后显示出各条染色体的带型有所不同，于是可根据带型把 9～12 号染色体一一区别开来，而不必把它们笼统地统称为 C 组染色体。根据核型和带型可把染色体依序编号（图 2－29)。染色体分带有助于研究基因在染色体上的位置、染色体畸变、基因重排等结构变化，也可在物种间进行染色体比较，为分析进化关系提供依据。

不同的染色方法所显示的带型有差异，常用的显带法主要有三种：

1. Q－带

用氮芥奎丫因(quinacrine mustard)或其他荧光染料染色后，在荧光显微镜下染色体不同区域显示出强弱不同的荧光，这样显示出的带称为 Q－带。Q－带主要显示染

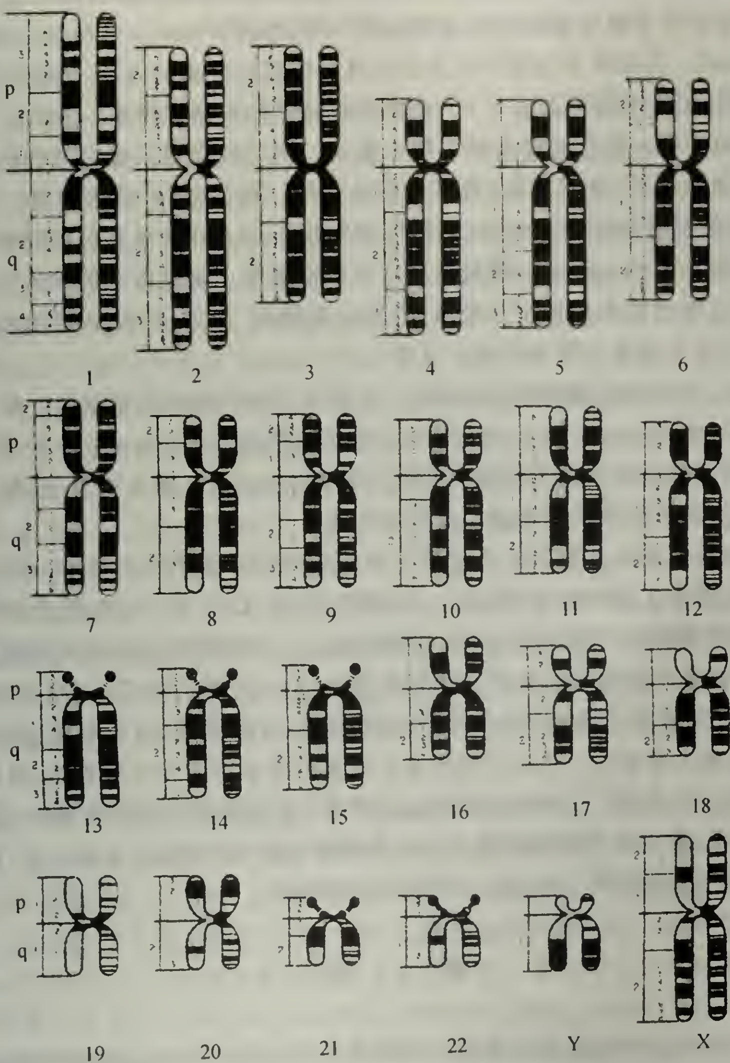


图 2－29　人类标准核型模式图

根据染色体的大小和着丝粒的位置（中、亚中和亚端三种）将 44 个常染色体和 X、Y 两个性染色体分成 A～G 7 个组，并根据 G 带确定每条的序号。核仁组织染色体为第 13、14、15、21 和 22 号，它们在短臂端部均具有与核仁组织区（次级缢痕）相邻的随体

色体 DNA 的 A-T 对丰富区。由于荧光保持时间短，故标本不适于长期保存观察。

2. G 带

标本先用蛋白质水解酶处理，然后用吉姆萨（Giemsa）染液染色而显示出明暗相间的带型，用这种方法显示的带型称为 G 带。G 带显示的带型条纹与 Q 带基本一致，而且标本适于长期保存观察，故它可取代 Q 带技术，得到较广泛的应用。它的缺点是，吉姆萨染色缺乏专一性，可重复性较差。

3. C 带

在染色之前先用 NaOH 和盐类处理标本，使染色体发生部分变性，但着丝粒区比较稳定。然后用 Giemsa 染色，染色体两臂的常染色质区仅浅染不显带，而着丝粒区深染，故此染色法只对着丝粒（centromere）显带，特称为 C 带。由此可见，C 带专门适合于

显示含有高度重复序列的恒定型异染色质(constitutive heterochromatin)区。

通过分带技术可使中期染色体显现出若干深染的带(band),带与带之间的区域为间带(interband)。分带技术为鉴别人类染色体提供了一种新的方法。国际人类染色体命名常务委员会于 1978 年公布了“人类细胞遗传学命名国际体系”(ISCN, 1978), 对人类染色体的核型、区带的命名做了统一规定, 用 3 种参量来确定染色体上的各个带,即:①染色体序号;②臂符号;③区和带的符号。用字母“p”代表短臂,“q”代表长臂。选择某些极显著的带和着丝粒、端粒作为界标(landmark),从着丝粒到端粒依次将染色体臂分为若干区(regions),再把每一区中的带编号。如果某一带中还可更细分为若干亚带,则在带号的后面加上小数点,再加上亚带号。例如,6p22.3 即代表第 6 号染色体的短臂上第 2 区第 2 带中的第 3 亚带。

我们知道,染色体是遗传信息的载体,遗传信息的功能单位是基因。单倍体细胞或一个染色套(chromosome set),所含的全部基因称为基因组(genome)。从基因组整体水平上研究基因活动规律的学科称为基因组学(genomics)。近几年来,随着人类基因组计划的实施,基因组学的研究越来越受到重视。

本章我们所介绍的这些研究方法仅仅是细胞生物学技术中的很少一部分, 目的是让读者对这些最主要的技术原理有一个概括了解, 以有助于对本课后续内容的学习。至于以后在研究中所需用的技术,则要根据自己的需要有目的地去选择利用。需要指出的,我们决不能固守已有的方法而因循守旧,也不能针对某一种新技术蜂拥而上。重要的是,要在工作中对已有的技术有所改进,有所发展,有所创新,从而在自己的工作中获得最大得成功。从以往获得诺贝尔奖的学者的工作可以看出,他们的主要贡献可概括为三个方面: ①提出重大理论或学说; ②创新或改进重要技术; ③重要物质的发现。然而,某些重要理论的提出往往是依赖于技术的进步。由此可见,在研究工作中不可“重理论,轻技术”,技术是达到成功的铺路石。

提　　要

细胞生物学的发展历史告诉我们, 研究方法和手段的不断创新推动着学科的不断发展, 每当有一种新的重大技术突破时, 即预示着学科将有一次飞跃。现今细胞生物学中使用方法多种多样, 而且今后还要不断地增加。总的说来, 可将这些方法归纳为:形态观察、生物化学分析、细胞生理学技术和实验操作技术四大类。

在形态观察方面所使用的主要工具是各种显微镜。光学显微镜仍不失为当今最常用的细胞观察工具, 其中普通显微镜、相差显微镜、荧光显微镜和干涉差显微镜是细胞生物学工作者的必备显微镜。显微镜的质量不仅决定于放大倍数,而且还有赖于分辨率。分辨率可用公式表示:

$$D=\frac{0.61\lambda}{N.A.}$$

光波的长度和镜口率决定了分辨率的大小,光波越短,镜口率越大,分辨率越高。然而受光波波长的限制, 普通光学显微镜分辨率的极限为 0.2μm, 故放大倍数不可能随意无限提高。

活细胞一般是半透明的, 内部结构的反差小, 在普通显微镜下不易看清楚。为了

加大细胞各种结构间的反差而设计出了相差显微镜。其原理是在显微镜光路中添加光阑和相板，使透过标本的光程差转变为振幅差，光线合轴后发生干涉效应，从而使各种结构的影像反差加大，变得清晰易见。

电子显微镜是以电子束为光源使标本成像，电子束透过标本产生的散射电子打到荧光屏上，形成影像。为了增加反差，电镜标本要用重金属物质进行"电子染色"。电子束的波长与电压的平方根成反比，当电压达到 100 000V 时，波长约为 0.0038nm，分辨力达纳米水平，放大倍数可达 10^6。利用穿过标本的透射电子成像的电镜称为投射电镜(TEM)；利用标本表面散射出的次级电子形成影像的电镜称为扫描电镜(SEM)。扫描隧道显微镜的分辨率很高，可直接观察物质结构和大分子的原子布阵。

生物化学分析技术适用于研究细胞的生化成分，特别是生物大分子的性质、结构和功能。它包括的技术种类很多，最基本的有细胞化学法和原位杂交法，也有放射自显影法等，这些方法在研究细胞物质的分布和代谢途径方面起了重要的作用。分子生物学的研究成果更加推动细胞生物学跃上了一个新水平。分离细胞的微小颗粒和大分子物质最基本的手段是超离心，用超离心可测定颗粒物质的沉降系数和分子量。沉降系数的单位用 S 表示，S 的数值为 10^{-13}s。颗粒物质的大小一般用沉降系数表示，如原核生物的核糖体为 70S，而真核生物的为 80S。核酸分子扩增、分子杂交和 DNA 重组技术业已成了分子细胞生物学和分子生物学的重要技术，近几年来所取得的许多进展度与这种技术的应用有关。膜电位测定和膜片制导技术的使用为研究细胞的生理活动和离子通道做出了重大贡献，特别是在研究神经生理方面，膜电位测定技术是不可缺少的。

细胞生物学中使用的实验操作技术也是多种多样的。组织培养是在体外研究细胞活动(*in vitro*)的基本手段，细胞生物学中的许多资料即使来源于体外培养细胞的研究，然后再推理到体内细胞(*in vivo*)的活动状态。癌细胞和转化细胞可在体外长期传代培养，通过培养可建立细胞系保存，为实验室提供实验材料。植物细胞培养在基础研究和植物育种，以及植物快速繁殖等方面已发挥了重大作用。细胞培养是细胞工程领域中的重要手段，细胞生物学工作者不可不加以掌握。在研究细胞的遗传变异时，常用细胞染色体核型(karyotype)分析技术，根据细胞染色体组的显微影像绘制的核型图称为核型模式图(idiogram)。分带则是对染色体结构做更细致的分析。不能不认为核型分析和染色体分带技术是当前人类基因组计划的最基本的技术基石。其他一些实验操作技术，主要包括一些对细胞结构进行解剖和手术处理的技术。例如显微操纵技术、核移植、基因导入、细胞融合等。

如果说科学技术是生产力，那么在生产力的发展过程中理论和技术总是结合在一起，共同孕育着科学的未来。

复习思考题

1. 阐明光学显微镜的成像原理。为什么说光学显微镜的放大倍数不能无限提高？
2. 透射电镜与普通光学显微镜的成像原理有何异同？
3. 放射自显影技术的原理根据是什么？为何常用 ^{3}H、^{14}C、^{32}P 标记物做放射自显影？用 ^{60}Co 是否可以？
4. 核型制作技术的主要步骤有哪些？
5. 何谓免疫荧光技术？可自发荧光的细胞物质是否可在普通显微镜下看到荧光？

6. 超离心技术的主要用途有哪些?
7. 细胞融合有哪几种方法? 病毒诱导与 PEG 的作用机制有何不同?
8. 请你设计一个显示 DNA 在细胞中分布的实验。
9. 你怎样理解科学和技术的相互关系,以及它们在人类社会发展中的作用。

主要参考文献

鲁崎唔,1981. 冰冻断裂和冰冻蚀刻技术,生物化学与生物物理进展,2:29~34

王子淑,1987. 人体及动物细胞遗传学实验技术,成都:四川大学出版社

吴学军、柴建华,1995. 荧光标记的染色体原位杂交及其在人类基因组研究中的应用。生物化学与生物物理进展,22(2):122~126

杨汉民,1997. 细胞生物学实验(第二版),北京:高等教育出版社

章静波,1990. 细胞生物学实验方法与技术,北京:高等教育出版社

G. D. Wasley(何申译),1982. 动物组织培养技术,北京:科学出版社

冈田善雄(杨畔农译),1974. 细胞融合,北京:科学出版社

Alberts, B. *et al.*, 1994. *Molecular Biology of the Cell*(3rd. ed.), Garland Publishing, Inc., New York

Brocksch, D., 1994. Bereter-Hahn, J., Dunn, G., etal. Microscopy techniques, in '*Cell Biology, A Laboratory Handbook, V. II*', Celis, J. E. ed., Academic Press, San Diego, California

De Robertis, E. D. P. & De Robertis, E. M. F., 1986. *Cell and Molecular Biology*(8th ed), Lea & Fehiger, Philadeiphia, pp. 73~101

Marchi, E., 钟南, 1999. 基因组学在基因组计划中的作用. 生命的化学,19(1):9~10

Neher, E., 1992. Ion Channels for Communication between and within *Cells. Science*, 256: 498~502

Pease, D. C. & Porter, K. R., 1981. Electron Microscopy and Ultramicrotomy. *J. Cell Biol.* 91; 287~292

Singleton, P. and Sainsbury, D., 1978. *Dictionary of Microbiology and molecular Biology* (2nd ed.), John Wiley & Sons, New York

Wakayama, T., Perry, A. C. F., Zuccotti, M. *et al.*, 1998. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*, 394: 369~374

Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhir, J. *et al.*, 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian *cells. Nature*, 385: 810~813

Zernike, F., 1955. How I Discovered phase contrast. *Science*, 121: 345~349

第三章

细胞的基本概念

第一节　细胞的基本特征

自从 17 世纪发现细胞以后，经过 170 余年才认识到细胞是一切生物体进行生命活动的基本结构和功能单位。生命活动是生物所特有的属性。细胞是构成生物的基本结构实体，根据细胞在生物界中的共性，我们可以将细胞定义为：细胞是有膜包围的能独立进行繁殖的原生质团。原生质(protoplasm)一词是 Purkinje 于 1839 年首先提出来的，是指活细胞的全部活物质，从现代概念来说它包括质膜、细胞质和细胞核(或类核)。质膜以内，细胞核以外的原生质称为细胞质 (cytoplasm)；细胞核中的原生质则称为核质(nucleoplasm; karyoplasm)。细胞质并不是匀质的，它包含了许多结构。其中在光学和电子显微镜下能显示出的具有一定形态特点并执行特定功能的结构称为细胞器(organelle)，例如质体(plastid)、线粒体(mitochondrion)、内质网(endoplasmic reticulum)、核糖体 (ribosome)、高尔基体 (Golgi body; Golgi apparatus)、溶酶体 (lysosome)、中心粒(centriole)、圆球体(spherosome)、液泡(vacuole)和细胞骨架(cytoskeleton)。细胞质中除了膜围细胞器以外的部分称为细胞质溶质或胞质溶胶(cytosol)，内含有水、无机离子、酶以及可溶性大分子和代谢产物。细胞质溶质并不是一般概念的胶体，它是一个形态不定的立体结构体系，它的胶相是由溶质中的肌动蛋白丝的结构状态决定的。细胞作为一个形态整体，结构精密，而且在生长、发育、分化和生理活动过程中细胞的结构还要不断地发生变化，因而要把细胞看作是一个动态的结构体系(图 3 - 1)。

细胞的结构大体上可用以下格式表示之：

细胞(原生质体)
- 质膜
- 细胞质 ——
  - 细胞器
  - 细胞质溶质(胞质溶胶)
  - 细胞骨架
- 细胞核(或类核)

由于细胞是生物体最基本的结构和功能单位，因此细胞就要具有进行生命活动的最基本的要素。这些要素可归纳为：①具有一套基因组；②具有一层质膜，通过质膜与周围环境进行物质和信息交流；③具有一套完整的代谢机构。只有具备了这些要素细胞才能独立存活，表现出各种生命现象。

细胞区别于无机界最主要的特性是：①在结构上具有自我装配的能力；②在生理活动中具有自我调节的能力；③在增殖上具有自我复制的能力。这些特性也可以说是生命的特征，它们的丧失即意味着死亡。这些特征在本书以后的内容中将得到反映和验证。在细胞的定义里我们强调了能进行独立繁殖这一特征，不能进行独立繁殖的结构实体则不算是细胞。在生物界里目前发现的最小的细胞要算是枝原体了，最小的枝原体直径只有 0.1μm。尽管它的体积很小，但是却具备了进行生命活动最基本的三项要素。病毒则不然，它不仅体积小(大都在 0.1μm 以下)，而且更重要的是它缺少进行

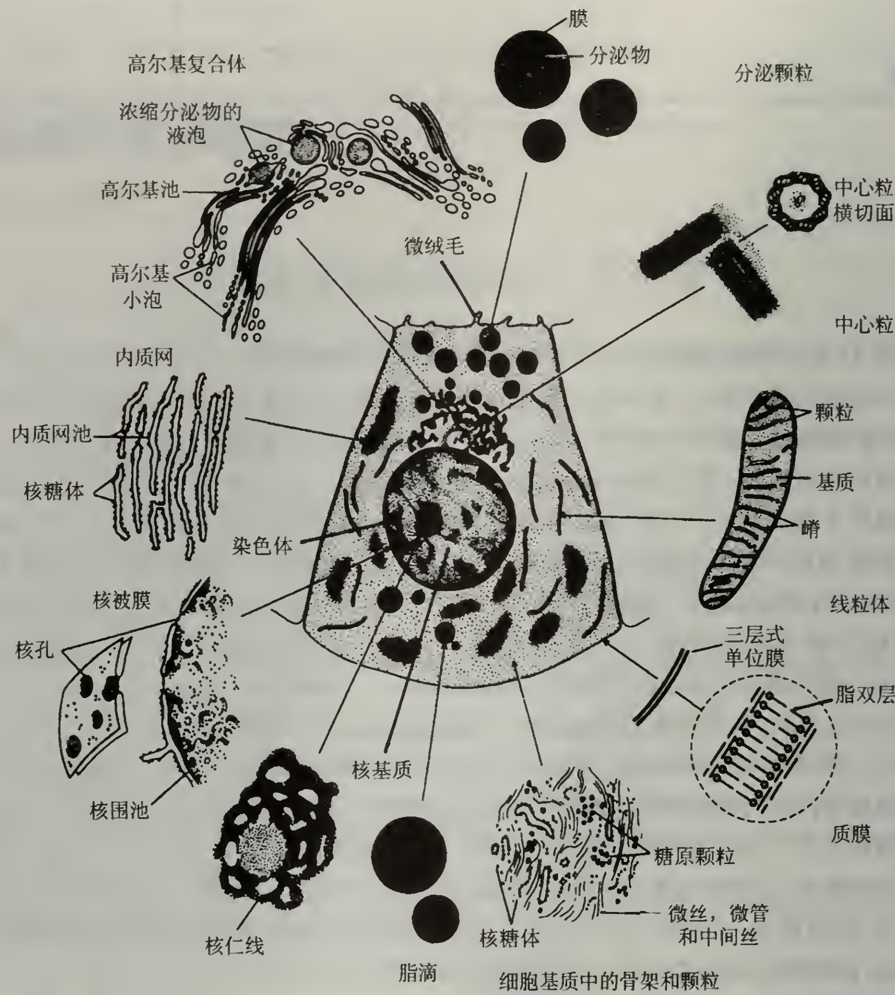


图 3－1　典型动物细胞基本结构成分示意图

独立代谢的某些基因和机构，从而它在单独存在时不能自我繁殖。因此之故，病毒不是细胞，它只是具有部分生命特征的感染物。虽然有的学者只把它称为“半生命”，但是它既不是生命，也不是有机体。它在细胞中的复制和装配是靠细胞的代谢活动来完成的，本身没有独立活动的能力。

第二节　原核细胞与真核细胞概念的确立

传统分类法根据生物的营养方式、运动能力和细胞结构的特点，把一切生物划分为动物界和植物界两大界。植物细胞的主要特征是具有硬的细胞壁和进行光合作用的叶绿体。细菌和真菌虽无叶绿体，但却都具有细胞壁，所以过去一直把它列入植物界（表 3－1）。按传统分类系统，虽然大多数生物种容易归类，可是对某些生物来说却遇到了分类上的困难，例如眼虫（*Euglena*）是一种单细胞生物，含有叶绿体，却不具有细胞壁；而细菌和真菌则有细胞壁而无叶绿体；更有甚者，支原体既无叶绿体也无细胞壁，这些生物按照传统分类法进行分类显然就要遇到困难。

表 3-1 生物界两种分类系统的比较

传统分类系统	按细胞结构分类系统 细胞类型	Whittaker(1969)[1]	Dodson(1971)[2]
植物界	原核生物	原核生物界(monera)	原核生物界
细菌		细菌	细菌
蓝藻		蓝藻(现称蓝细菌)	蓝藻(现称蓝细菌)
金藻	真核生物	原生生物界(protista)	植物界
绿藻		金藻	金藻
红藻		原生动物	绿藻
褐藻		真菌界	红藻
粘菌		粘菌	褐藻
真正真菌		真正真菌	粘菌
苔藓		植物界	真正真菌
维管植物		绿藻	苔藓
动物界		红藻	维管植物
原生动物		褐藻	动物界
后生动物		苔藓	原生动物
		维管植物	后生动物
		动物界	
		后生动物	

1. Whittaker, R.H., 1969, New concepts of the kingdoms of organisms. *Science*, 163:150~160
2. Dodson, E.O. 1971, The kingdoms of organisms. *Systematic Zoology*, 20:265~281

1925 年 Chatton 把细胞中不含有由膜包围的细胞核的生物称为原核生物(prokaryote),例如细菌(bacterium)、蓝细菌(cyanobacterium)(过去称为蓝藻,blue-green algae)。自从原核生物概念提出之后,则把含有由被膜包围的核的细胞称为真核细胞。

自从提出原核细胞和真核细胞概念之后,分类学家据此对植物界和动物界的划分作了重大修改,从而产生了现代分类系统。现代分类系统首先着眼于细胞核在生物进化中的地位,而不仅仅是根据细胞的一般结构。表 3-1 对经典分类系统与现代分类系统做了比较 。从表中可以看出,虽然现代分类系统仅把细菌和蓝藻(现称蓝细菌)列为一类,但在分类中却把原核生物和真核生物的概念确立下来了。现代分类系统现在已被学术界所普遍接受。

自从 20 世纪 60 年代 H. Ris 提出原核细胞与真核细胞的概念之后,大家对它们的结构进行了系统的研究和比较,发现这两类细胞在结构、代谢和遗传活动上有很大的差异,表 3-2 列出了两类细胞的主要差别。

一、原核细胞

前面我们已经讲过,原核细胞(prokaryotic cell)最主要的特征是没有由膜包围的细胞核。在枝原体中,遗传物质分布于整个细胞中。细菌的遗传物质则集中在一个没有明确界限的低电子密度区域中,此区域称为拟核(nucleoid)(图 3-2)。原核细胞中的 DNA 为裸露的环状双螺旋分子,一般不结合蛋白质,环的直径约为 2.5nm,长约几十纳米。原核细胞构成的生物称为原核生物,均为单细胞生物。大多数原核细胞比较小,平均只有 1~10μm。枝原体、立克次体和鹦鹉热菌则要更小,只有 0.1~0.3μm。原核细胞也有大的 ,如蓝细菌中的颤藻(*Oscilatolia princeps*),直径可达 60μm。有的物种,细胞分裂后可连成链或丝,也有的形成群体。它们的繁殖方式一般为二分裂,也有的产生孢子,

表 3－2　原核细胞与真核细胞的主要差别

要　点	原核细胞	真核细胞
大小	大多数很小（1～10μm）	大多数较大（10～100μm）
细胞核	无膜包围，称为拟核	有双层膜包围
染色体		
形状	环状 DNA 分子	核中的为线性 DNA 分子；线粒体和叶绿体中的为环状 DNA 分子
数目	一个基因连锁群	2 个或多个基因连锁群
组成	DNA 裸露或结合少量蛋白质	核 DNA 同组蛋白结合；线粒体和叶绿体中的 DNA 裸露
DNA 序列	无或很少重复序列	有重复序列
基因表达	RNA 和蛋白质在同一区间合成	RNA 在核中合成和加工；蛋白质在细胞质中合成
细胞分裂	二分或出芽	有丝分裂或减数分裂
内膜	无独立的内膜	有，分化成细胞器
细胞骨架	无	普遍存在
运动细胞器	由鞭毛蛋白丝构成简单鞭毛	由微管构成纤毛和鞭毛
呼吸作用和光合作用酶的分布	质膜	线粒体和叶绿体（植物）
核糖体	70S（50S＋30S）	80S（60S＋40S）
营养方式	吸收，有的行光合作用	吸收，光合作用，内吞
细胞壁	肽聚糖，蛋白质，脂多糖，脂蛋白	植物细胞具有纤维素壁

少数行出芽生殖。

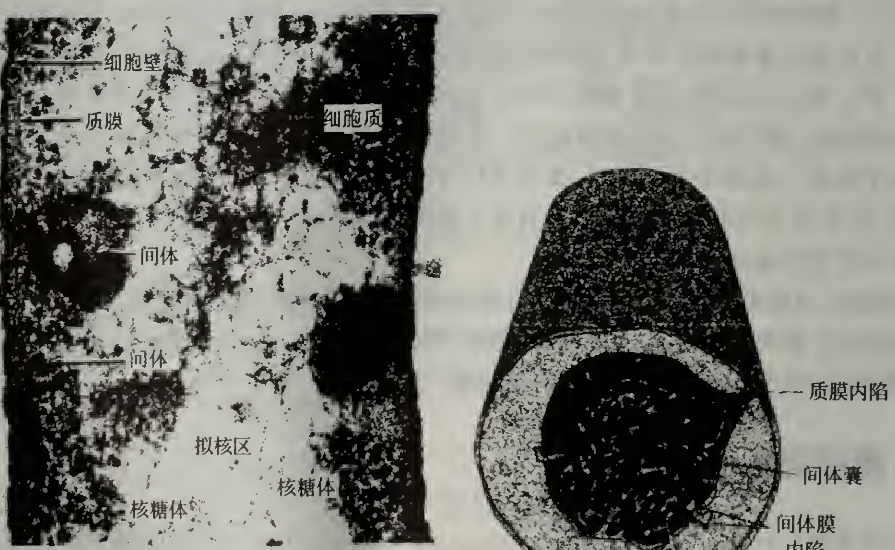


图 3－2　铜绿色假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa*）的部分纵切面
有两个间体与质膜相连，质膜外为细胞壁，拟核与细胞质之间无明确分界，细胞质区中有核糖体。×82 000（自 Hoffman, H. P.　1973）

原核细胞的形态和结构比较简单，质膜内为细胞质和拟核，多数在质膜外还有一

层硬的细胞壁。枝原体的质膜外面没有细胞壁,所以可以把枝原体细胞看作是原生质体(protoplast),如类胸膜炎球菌(pleuropneumonia - like organism, PPLO)。

质膜是细胞进行生命活动的一种基本结构,任何细胞质膜遭到破坏就不能存活。原核细胞的质膜具有单位膜的典型特征,在电镜下呈现为暗 - 明 - 暗三层形式,厚约 10nm。某些原核生物的质膜在有的部位发生内褶,但不把细胞质分隔成区。如有的行光合作用的原核生物(如蓝细菌和紫细菌),质膜内褶形成的内膜结合有色素,同捕光反应有关。还有一种质膜内褶在细胞之中形成小管状结构,称为间体(mesosome),它与细胞呼吸和细胞分裂有关。一般说来,除了少数原核生物[如某些化能合成细菌,像海洋亚硝化囊菌(*Nitrosocystis oceanus*)和蓝细菌]外,大多数原核生物没有恒定的内膜系统,因而细胞质中没有由膜隔开的特化区,这也是原核细胞区别于真核细胞的重要特征之一。原核生物的核糖体比较小,为 70S 类型,直径约 15~20nm,其所含的 RNA 和蛋白质亦不同于真核细胞。关于原核生物的其他有关细节将在以后各有关章节中予以介绍。

二、真核细胞

真核细胞最主要的特点是,细胞内由膜间隔成了许多功能区。最明显的是细胞含有由膜围成的细胞核,另外还有由膜围成的细胞器,如线粒体、叶绿体、内质网、高尔基体、溶酶体等(图 3-3)。其中核膜、内质网、高尔基体、溶酶体等在结构上形成了一个连续的体系,称为内膜系统。内膜系统将细胞质分隔成了一些区间,即所谓的分区化(compartmentalization)。分区化是细胞进化高等的特征,它使细胞的代谢活动比原核细胞大为提高。线粒体和叶绿体则承担了一些特殊功能,例如,氧化磷酸化作用主要集中在线粒体中进行;植物细胞的光合作用则集中在叶绿体中进行。

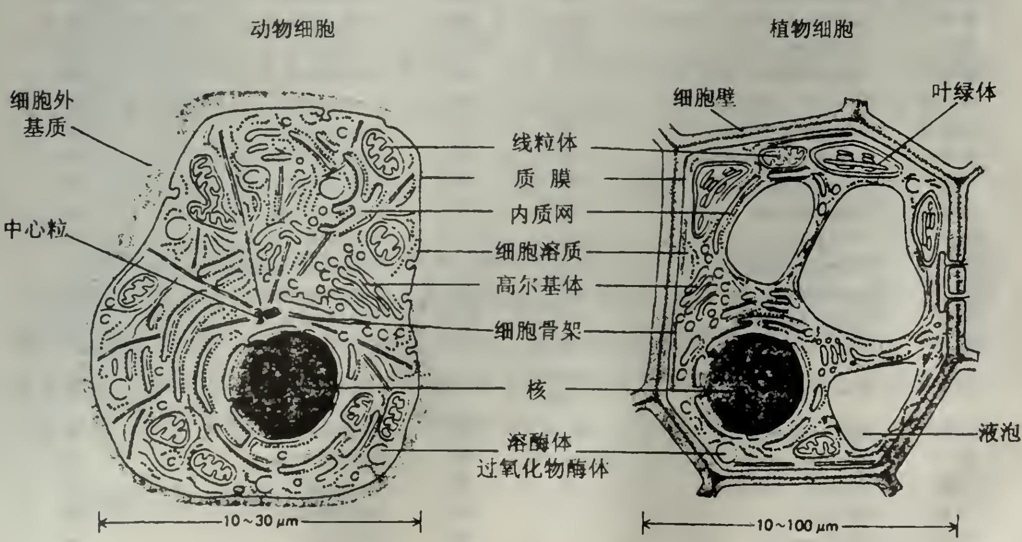


图 3-3 动物细胞与植物细胞结构比较模式图

真核细胞的主要结构有如下几种:

1. 质膜

细胞表面的一层膜，为一层单位膜，特称为质膜(plasmolemma; plasma membrane)。

2. 细胞核

细胞中由膜围成的主要细胞器是细胞核 (nucleus)。核表面是由双层膜构成的核被膜(nuclear envelope)，核内包含有由 DNA 和蛋白质构成的染色体(chromosome)。间期染色体结构比较松展，称为染色质 (chromatin)；而在有丝分裂过程中染色体变为凝缩状态，呈线状，故过去将其称为染色体。其实染色质与染色体并没有本质上的差别，只是在细胞周期的不同时期其结构状态不同而已，故现今有的学者们倾向于统称为染色体。染色体的数目因物种而异，有的可多达数百个，如蕨类植物(*Ophioglossum reticulum*) 多倍体染色体数竟达 1260 个；有的少，只有 2 个，如担子菌 (*Tolyposporium chrisiensenii*)，$2n=2$。体细胞为二倍体($2n$)，染色体成对存在，各个物种一般都具有一定的染色体数(表 3－3)。核内尚含有 1 至数个小球形结构，称为核仁(nucleuli)。

表 3－3　某些植物和动物种二倍体($2n$)染色体数

植物			动物		
俗名	学名	染色体数	名称	学名	染色体数
蕨	*Ophioglossum reticulatum*	1260	蛔虫	*Ascaris megalocephala*	2
	(多倍体)		线虫	*Caenorhabditis elegans*	12
银杏	*Ginkgo biloba*	24	蚕	*Bombyx mori*	56
水杉	*Metasequoia glyptostroboides*	22	蝴蝶	*Lysandra atlantica*	446
红松	*Pinus koraiensise*	24	家蝇	*Musca domestica*	12
甘蓝	*Brassica oleacea*	18	果蝇	*Drosophila melanogaster*	8
西瓜	*Citrullus vulgaris*	22	蜜蜂	*Apis mellifica*	32,16
黄瓜	*Cucumis sativus*	14	蚊	*Culex pipiens*	6
梅子	*Pruns domestica*	48	斑马鱼	*Brachydanio rerio*	50
咖啡	*Coffea arabica*	44	鲤	*Cyprinus carpio*	100
向日葵	*Helianthus annuus*	34	蛙	*Rana* spp.	26
马铃薯	*Solanum tuberosum*	48	爪蟾	*Xenopus laevis*	36
番茄	*Lycoperium solanum*	24	鸡	*Gallus domesticus*	78
烟草	*Nicotiana tabacum*	48	鸭	*Anas platyrhyncha*	80
家豌豆	*Pisum sativum*	14	鸽	*Columba livia*	80
蚕豆	*Vicia faba*	12	小白鼠	*Mus musculus*	40
菜豆	*Phaseolus vulgaris*	22	大白鼠	*Rattus norvegicus*	42
大豆	*Glycine max*	40	中国仓鼠	*Cricetus griseus*	22
花生	*Arachis hypogaea*	40	豚鼠	*Cavia cobaya*	64
橘子	*Citrus sinensis*	18,27,36	家兔	*Oryctolagus cuniculus*	44
香蕉	*Musa paradisiaca*	2,44,55,77,88	大熊猫	*Ailuropoda melanoleucus*	42
苹果	*Malus silvestris*	34,51	狗	*Canis familiaris*	78
梨	*Pyrus communis*	34,51,68	猫	*Felis domestica*	38
高粱	*Sorghum vulgare*	20	猪	*Sus scrofa*	40
玉米	*Zea mays*	20	山羊	*Capra hircus*	60
黑麦	*Secale cereale*	14	羊	*Ovis aries*	54
大麦	*Hordeum vulgare*	14	牛	*Bos taurus*	60
小麦	*Triticum vulgare*	42	马	*Eguus caballus*	64
水稻	*Oryza sativa*	24	驴	*Equus asinus*	62
甘蔗	*Saccarum officinarum*	80	恒河猴	*Macaca mulatta*	42
葱	*Allium fistulosum*	16	金丝猴	*Rhinopithecus roxellanae*	44
甘薯	*Dioscorea esculenta*	90	人	*Homo sapiens*	46

3. 细胞质

存在于质膜与核被膜之间的原生质称为细胞质（cytoplasm），各种细胞器(organelles)均存在于细胞质中。除膜围细胞器外，细胞质的其余部分称为细胞质溶质（cytosol）或胞质溶胶。过去曾把细胞质除了细胞器外的无定形成分称为细胞质基质(cytoplasmic matrix)。细胞质中主要的细胞器有如下几种：

(1)内质网(endoplasmic reticulum)。由膜围成的隧道系统。实际上是一个连续的膜囊和膜管网，可分为糙面内质网（rough endoplasmic reticulum, RER）和光面内质网(smooth endoplasmic reticulum, RER)两大部分。

(2)高尔基体(Golgi body; Golgi apparatus)。由成摞的扁囊和小泡组成，与细胞的分泌活动和溶酶体的形成有关。

(3)溶酶体(lysosome)。动物细胞中含有多种酸性水解酶的膜围细胞器，行细胞内消化作用。

(4)线粒体。除了一些厌氧原生动物外，真核细胞均含有由双层膜围成的与能量代谢有关的线粒体(mitochondrion)。线粒体的主要作用是合成ATP。线粒体中有环状的线粒体DNA(mtDNA)，mtDNA含有为线粒体自身部分蛋白质编码的基因，故线粒体为半自主性细胞器。

(5)叶绿体。植物细胞中与光合作用有关的双层膜小体，称为叶绿体(chloroplast)。其主要本领是将光能转化为化学能，它和线粒体均称为能量转化细胞器。

(6)细胞骨架(cytoskeleton)。为细胞中纤维状的结构，包括有微管、微丝和中间丝。细胞骨架与细胞各种运动有关，亦有保持细胞形态结构的功能。

(7)中心粒(centriole)。是动物细胞中由9+3微管组成的筒状结构，成熟的中心粒一般成对存在。中心粒加中心粒周物质称为中心体(centrosome)。

(8)微体(microbody)。细胞质中含有多种氧化酶(如过氧化物酶和尿酸氧化酶)，由一层单位膜围成的小泡状结构，与分解过氧化氢和乙醛酸循环有关。

以上所介绍的仅仅是细胞的基结构，由于各种细胞所执行的功能不同，不同的细胞还具有特有的结构，在此不一一例举，将在以后各章中予以介绍。

第三节　病　　毒

前面我们已讲过，从结构和属性上来看，病毒(virus)不是细胞，不属本书范围的讨论对象。然而病毒的某些属性与细胞又有一定的共同性，例如具有共同的遗传基础，研究病毒活动可获得一些有价值的资料，有助于对细胞活动机制的理解。此外，病毒是寄生性感染物，宿主是细胞，病毒的活动与细胞有着密切的关系，故在对细胞进行全面介绍之前有必要先对病毒作一概括的介绍。

一、病毒的形态和结构

病毒在结构上比原核细胞和真核细胞都要简单得多，是由核酸（DNA或RNA）芯和蛋白质外壳所构成。病毒专营细胞内寄生生活，它们缺少进行自主代谢的完整机构，故单独存在时不能繁殖。由于病毒在细胞外环境中存在时没有生命活动，因此病毒既不是生命体，也不是有机体，而只能算是生物大分子的复合物。根据寄生的宿主

不同，病毒可分为动物病毒、植物病毒和细菌病毒(即噬菌体)三大类。

病毒的大小差别很大，大都比细菌要小，一般在 10～30nm 之间。单个成熟的病毒称为病毒粒子(virion)，其形状多种多样(图 3－4)。组成病毒芯子的核酸有的为 DNA，

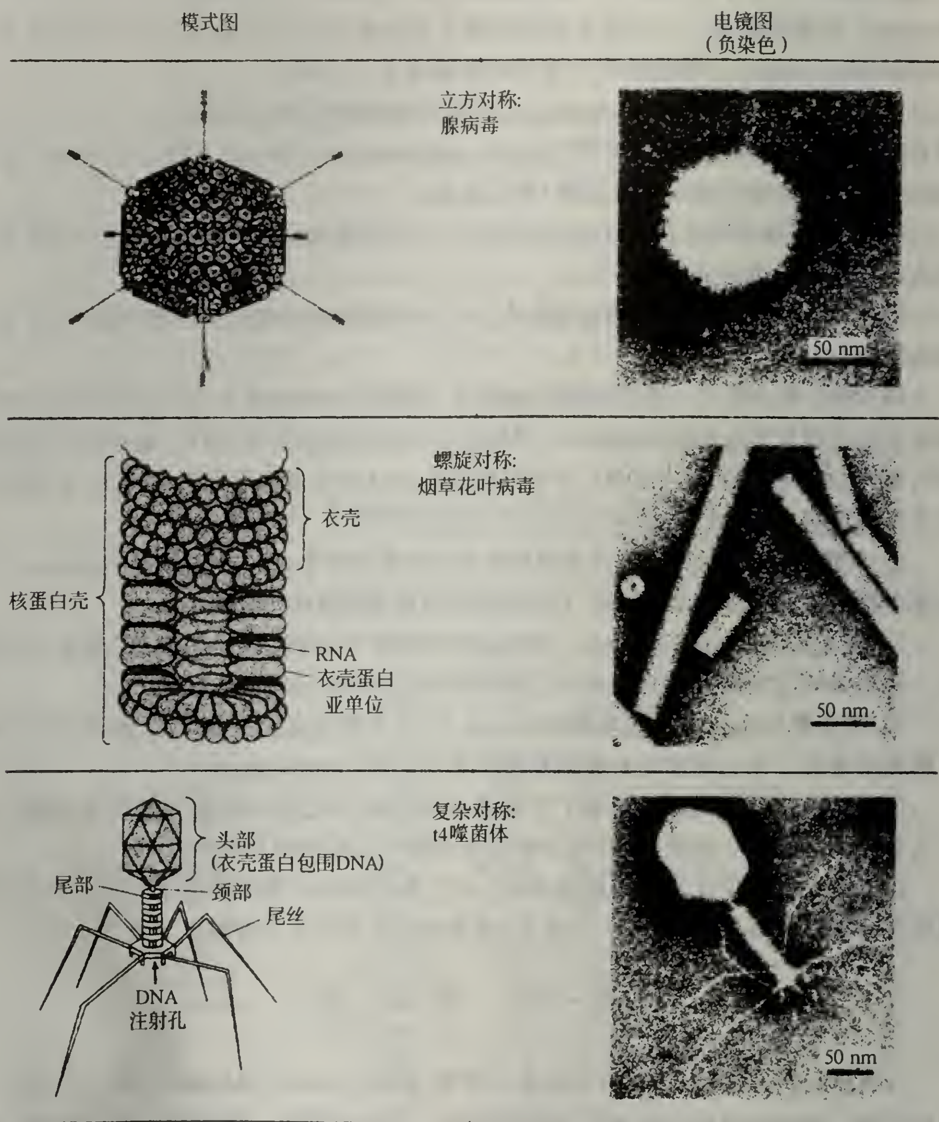


图 3－4　几种病毒粒子的结构

有的则为 RNA，但是没有一种病毒含两种核酸的情况。病毒遗传信息的编码规则与细胞的一致。根据病毒所含的核酸的性质和状态不同，可将病毒分为 6 类：

(1)双链 ± DNA→ + mRNA→蛋白质。

(2)单链 + DNA→ ± DNA→ + RNA→蛋白质。

(3)双链 ± RNA→ + mRNA→蛋白质。

(4)单链 + RNA→ － RNA→ + RNA→蛋白质。

(5)单链 － RNA→ + RNA→蛋白质。

(6)单链 + RNA→ - DNA→ ± DNA→ + mRNA→蛋白质。

天花病毒(variola virus)、多瘤病毒(polyomavirus)和 T- 偶数噬菌体(T-even phage)都含有双链 DNA。烟草花叶病毒(tobaco mosaic virus)、流感病毒(influenza virus)和脊髓灰质炎病毒(polio virus)是单链 RNA 病毒。各种病毒所含的遗传信息量是不同的，少的只含有 3 种基因，而多的则可达 300 个不同的基因。病毒的基因越少，则对宿主基因表达产物的依赖越多。但是不管病毒基因组的大小如何，病毒都是依赖宿主细胞来提供组建新病毒的物质。

病毒衣壳是由许多蛋白质亚单位所组成，这些亚单位称为壳微粒(capsomer)。病毒衣壳有保护病毒芯子不受核酸酶消化的作用。各种病毒的衣壳外形多种多样，决定衣壳形状的信息由亚单位自身所携带。亚单位蛋白质分子以一定的部位同相邻的蛋白质分子亲合，有秩序地组织到一起，形成了一定的排列方式，也就是说亚单位蛋白质的分子结构决定了衣壳的外形。病毒的形成不需要酶的参加，只要条件具备，便可通过自我装配(self assembly)过程自动装配完成。例如烟草花叶病毒是长棒装颗粒，直径 18nm，长 300nm，内含有长的 RNA 螺旋分子，衣壳是有许多棒状的壳微粒螺旋排列而成(图 3-4)。壳微粒都是由同一种蛋白质形成。病毒粒子经温和方法处理，可使衣壳与病毒芯子分离，衣壳会分散成 2000 余个壳微粒。如果将这些壳微粒置于适当的温度和离子强度条件下，它们会自动装配成不含核酸的长棒状衣壳。这种在试管中装配成的衣壳与完整病毒的衣壳完全一样，但无感染力。如果在装配过程中有病毒 RNA 参加时，则可装配成具有感染力的完整的长棒状病毒粒子。

由同一种蛋白质亚单位组成衣壳可最经济地利用病毒所携带的信息，只需有一个基因编码就够了。有的病毒，衣壳是由几种蛋白质组成，因此同一衣壳中不同的壳微粒对同一种抗血清有不同的反应。有的病毒衣壳呈多角形，最常见的多角形是二十面体，如腺病毒的衣壳即是二十面体（图 3-5)。二十面体具有 20 个面，30 条边，每一个面即是一个由壳微粒规则排列而成的等边三角形。腺病毒的衣壳含有 252 个壳微粒。体积越大的二十面体病毒，所含的壳微粒的数量越多，但它们排列的几何构型都是一样的。有的病毒除衣壳外，还有其他装置，如 T- 细菌病毒类就还有柄、基板(basal plate)和微丝几个部分(见图 3-4)。有的病毒的衣壳外面尚有一层被膜（vital envelope)，这层被膜是病毒粒子脱离细胞时，包被上的宿主细胞的质膜，被膜中含有病毒融合蛋白（viral fusion protein)，如流感病毒的被膜即含有融合

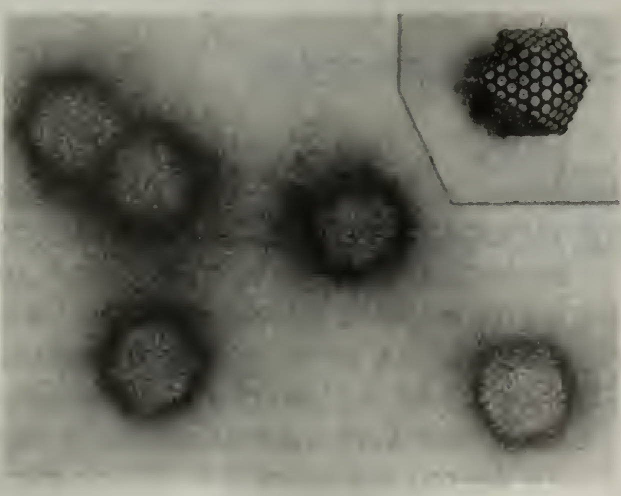


图 3-5 利用负染色在电镜下显示出的猿猴腺病毒(simian adenovirus)粒子
图中右上框插图示一个二十面体粒子模型
（自 Smith，K. O. & Trousdale，M. D.）

蛋白。病毒融合蛋白在病毒进入宿主细胞时起着关键作用。

病毒只有在侵入细胞以后才表现出生命现象。病毒的生活周期可分为两个阶段：一个是细胞外阶段，以成熟的病毒粒子形式存在；另一个是细胞内阶段，即感染阶段，在此阶段中进行复制和繁殖。感染阶段开始时，病毒的遗传物质由衣壳中释放出来，注入宿主细胞中，然后在病毒核酸信息的指导控制下，形成新的病毒粒子(图 3－6)。

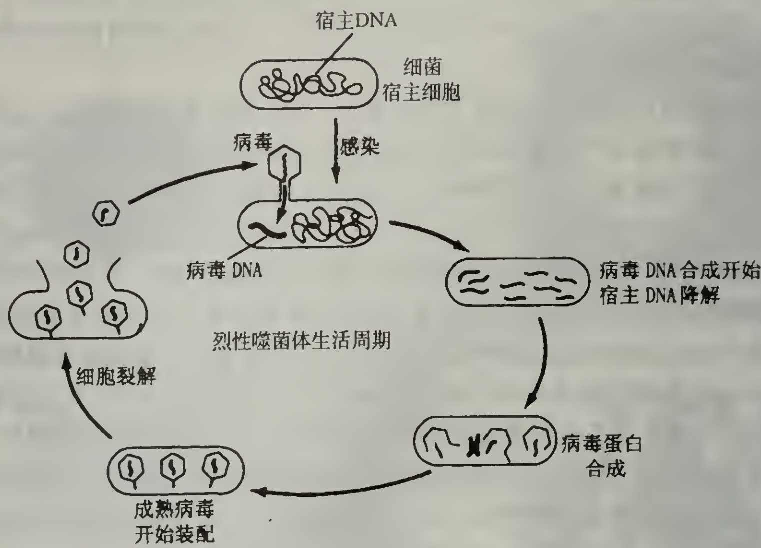


图 3－6　噬菌体的活动周期

感染的病毒控制了细胞的代谢活动，使细胞按照病毒的遗传指令产生新的子代病毒

二、病毒在细胞内的活动

病毒核酸一旦进入细胞，就要控制宿主细胞的代谢机构，使宿主细胞的代谢按照病毒繁殖的需要进行活动。由于病毒粒子中所含核酸种类不同，故在其进入宿主细胞后的活动方式就不完全一样，前面所列的六类病毒，即反映了这种状况。

含有双螺旋 DNA 分子的病毒，其 DNA 分子进入宿主细胞后，是在宿主所含酶的催化下进行复制。同样也是在宿主细胞中的 RNA 聚合酶的催化下，以病毒 DNA 分子的一股链为模板，合成＋RNA。所谓＋RNA 即是指与指导合成的蛋白质在序列上完全一致的 mRNA。病毒即是依赖宿主细胞的这种蛋白质合成机构，合成了病毒外壳的专一性蛋白质。衣壳蛋白质通过范德瓦尔力或氢键连接到核酸芯子上。

含有单链 DNA 的病毒（如噬菌体），其 DNA 单链进入宿主细胞后，首先合成与此 DNA 单链互补的新 DNA 单链，前者为＋DNA 链，后者为－DNA 链，二者互补结合后形成 DNA 双螺旋，然后通过滚环式复制方式合成许多 DNA 双螺旋环（参见第十四章）。两股链中的负链的作用是指导合成＋DNA 链。＋DNA 链则用于合成病毒专一的＋RNA 链，即 mRNA 链，为衣壳蛋白质编码。最后，＋DNA 链作为病毒芯子被衣壳蛋白包围，从而装配成了新的病毒粒子。

一些单链 RNA 病毒的 RNA 单链进入细胞后，便在 RNA 复制酶（合成酶）的催化下，以亲代 RNA 链为模板，合成新的 RNA 链，两股链形成 RNA 双螺旋。有的病毒，如脊髓灰质炎病毒和各种 RNA 噬菌体，所需的 RNA 复制酶是由亲代 RNA 链编码的。亲

代 RNA 链一旦进入宿主细胞，即附着到宿主细胞的核糖体上，起 mRNA 的作用，指导合成 RNA 复制酶。RNA 复制酶以一条 RNA 单链为模板催化合成互补链，并形成 RNA 双螺旋。RNA 双螺旋形成后，其负链即作为合成新链的模板。有些新链是作为合成蛋白质的模板；有些则成为形成子代病毒粒子的芯子。有的 RNA 病毒（如口腔类疱疹病毒）所需的 RNA 复制酶是由病毒粒子本身携带，这些复制酶是在病毒繁殖的前一周期中合成，进入了病毒粒子。

动物细胞的 RNA 肿瘤病毒粒子含有反转录酶（reverse transcriptase），亦称 RNA 依赖 DNA 聚合酶（RNA－dependent DNA polymerase），这种酶是 1970 年 Baltimore 在单链 RNA 病毒中发现的。反转录酶能以病毒 RNA 为模板，催化合成互补的 DNA 链，并形成 RNA-DNA 杂交双螺旋。然后在同一种酶的作用下，形成由两股 DNA 链组成的 DNA 双螺旋。此线性病毒 DNA 分子的两端可被一种病毒编码的整合酶（integrase）所识别，从而将病毒 DNA 分子插入到宿主细胞染色体的任何部位。插入的病毒 DNA 则利用宿主细胞的 RNA 聚合酶进行转录，产生大量的病毒 RNA 分子，这些 RNA 分子与原来感染的病毒基因组完全一致。最后，RNA 分子翻译产生了病毒衣壳、被膜和反转录酶等蛋白质，这些组件和病毒 RNA 一起装配成了具有衣壳的病毒粒子，当病毒粒子从细胞表面出芽脱出时，包被上了一层质膜（被膜，envelope），成为完整的病毒粒子（图 3－7）。

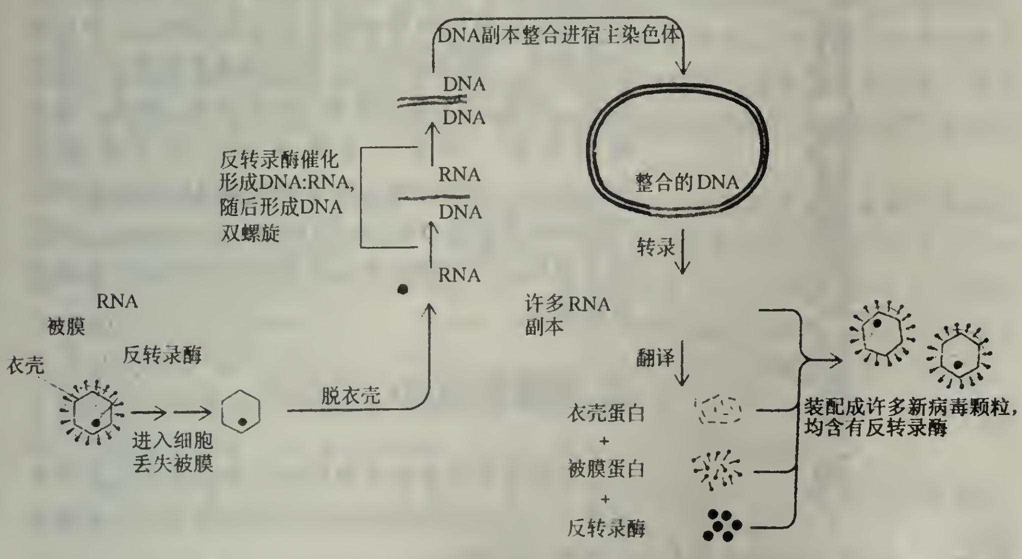


图 3－7 反转录病毒的活动周期

三、类病毒

有一类感染物在结构上比病毒还要简单，只有核酸所构成，没有蛋白质衣壳。由于它们具有感染作用，类似于病毒，故称为类病毒（viroid）。类病毒没有蛋白质外壳，仅为一裸露的 RNA 分子。它们不能像病毒那样感染细胞，只有当植物细胞受到损伤，失去了膜屏障，它们才能在供体植株与受体植株间传染。例如，马铃薯锤管类病毒仅由一个含 359 个核苷酸单链环状 RNA 分子组成，链内有一些互补序列（图 3－8）。分子

长约 40 ~ 50nm，只能为 70 ~ 80 个氨基酸编码，不能制造衣壳蛋白。

四、病毒的进化地位

无论是病毒还是类病毒都不具有独立进行生物合成的能力，它们都是细胞的寄生物，因此在进化上病毒的出现不可能早于细胞。病毒的前身很可能是在宿主染色体外独立进行复制的质粒（plasmid）。质粒既有 DNA 型的，也有 RNA 型的。它与病毒相似之处主要在于，它具有专一的核苷酸序列作为复制的起始部位。但它又不同于病毒，不能制造蛋白质外壳。

实际上，类病毒即可被看作是一种 RNA 质粒。当 DNA 质粒获得了为衣壳蛋白质编码的基因时，即意味着病毒出现了。

病毒能在种间传递核酸序列，因而它在生物进化上起着重要作用。由于病毒核酸往往可同宿主染色体重组，所以病毒核酸就有可能连接上一小段宿主染色体，一同传递到另一种细胞或有机体中。更有甚者，病毒 DNA 整合到宿主染色体中，变成了宿主基因组的一部分，这部分 DNA 称为前病毒（provirus）。通过病毒在宿主细胞基因组间传递 DNA 序列的过程称为 DNA 转导（DNA transduction）。在生物工程和分子生物学研究中常通过这种途径来转导目的基因。

五、病毒某些属性的启示

病毒的某些属性在细胞的生命活动中也具有普遍意义，通过对病毒活动的研究有助于对生命现象的理解。例如：

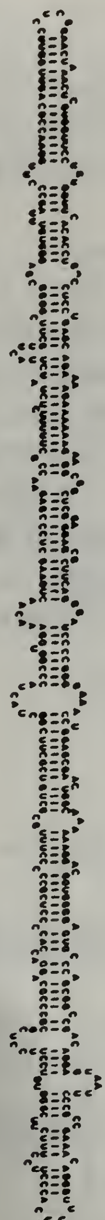


图 3-8　马铃薯锤管类病毒 RNA 分子的核苷酸序列和二级结构
分子为环状，不含有 AUG 密码子
（自 Gross, J. J. et al.　1978）

(1) 自我装配。病毒成分有限，结构简单，但只要成分齐备，条件适宜，即可自动装配成有活性的病毒。

(2) 装配信息来自分子本身。病毒形成特定的结构并不需要有外在模板的指导，其外形和装配方式由分子本身所携带的信息所决定。这种装配原理适用于细胞某些结构的形成。

(3) 遗传密码的统一性。病毒和细胞携带的遗传物质是相同的，使用了同一套遗传密码。这对研究细胞的遗传活动提供了方便。

(4)自我复制。病毒进入细胞后,能够自我复制和繁殖,反映了细胞的特征。然而病毒缺少独立进行自我复制的完整机构,它需要在细胞结构的支持下完成自我复制。

六、蛋白质感染因子

1982 年 S. B. Prusiner 在患羊瘙痒病的羊体内发现了一种蛋白质因子, 证明是羊瘙痒病的致病因子,他将其命名为 prion(pr 是 protein 之意; i 代表 infectious; on 为基本单位,类同于 cistron 中的 on),在国内有人将其译为“朊病毒”(蛋白病毒)。Prusiner 因此项重大发现而于 1997 年获得诺贝尔奖。但是需要说明的是, 这种感染因子不含核酸,在复制方式和传染途径上完全不同于传统概念上的病毒,因此还是称为“蛋白质感染子”为宜,以示与病毒的本质差别。

蛋白质感染子蛋白(prion protein, 简称 PrP)是由 *PrP* 基因编码, 该基因在人中位于第 20 号染色体,在小鼠中位于第 2 号染色体。这种蛋白质存在于神经元和神经胶质细胞表面上, 其作用尚未查清。破坏小鼠的 *PrP* 基因, 小鼠的发育和行为未发现异常变化。PrP 基因正常的表达产物并无致病作用,这种正常蛋白质称为 PrP^{C} 蛋白,对蛋白酶很敏感。一旦基因突变,有一个氨基酸发生改变,PrP^{C} 蛋白发生了构象变化,就变成了具有致病作用的 PrP^{Sc} 蛋白 。故由于基因突变而产生 PrP^{Sc} 引起的疾病是可遗传的。PrP^{Sc} 蛋白在构象上不同于 PrP^{C} 之处在于,前者的肽链中 α 螺旋减少,而 β 折叠增加。因此, PrP^{C} 向 PrP^{Sc} 转变实质上是 α 螺旋向 β 折叠的迁移转变。PrP^{Sc} 蛋白对蛋白质水解酶具有很强的抗性和高热稳定性,而且紫外线和电离辐射不能使其丧失活性。现已查明, 羊瘙痒病、疯牛病、人的纹状体脊髓变性病和脑软化病都是由这种 PrP^{Sc} 蛋白引起的。

由于蛋白质感染子不含核酸,因而学者们特别关心这种致病因子的复制和繁殖机制。研究表明,蛋白质感染子本身不能复制,其增殖方式是通过一个 PrP^{Sc} 分子与一个 PrP^{C} 分子相结合,前者诱使后者转变成 PrP^{Sc}, 从而形成了 PrP^{Sc} 二聚体, 于是一个 PrP^{Sc} 分子就变成了 2 个 PrP^{Sc} 分子。2 个 PrP^{Sc} 分子再以同样的方式变为 4 个, 如此倍增不已。在此过程中 PrP^{Sc} 起类似分子伴侣(molecular chaperone)的作用,也像是一个模板。当 PrP^{Sc} 分子积累到一定浓度时,就会损伤神经元而发病。还有一种假说认为,致病的 PrP^{Sc} 起晶种的作用,它在形成结晶时,使 PrP^{c} 转变为 PrP^{Sc}, 从而致病。

由此可见,蛋白质感染子的增殖既不是由于基因过分表达,也不是因翻译量增加,而仅仅是由于正常分子的构象发生转变造成的。这种构象异常的蛋白质分子成了致病因子。是否还有其他一些原因不明的疾病的致病因子也是这样产生的,尚有待更多的研究。

第四节　细胞的形状和大小

各类细胞尽管都具有一些共同的属性, 但是不同的细胞由于结构、功能和所处的环境不同,在形态上便产生了千差万别的变化,有圆形、椭圆形、柱形、方形、多角形、扁形、梭形,甚至不定形。

单细胞生物往往是单个细胞独立生活, 即便是成群体存在, 细胞间的关系也不密切,所以每种单细胞生物细胞往往有自己特有的形状。如细菌细胞,有呈棒状的杆菌,

也有球形的球菌，以及弯曲形的弧菌、螺旋体等。单细胞动物或植物的细胞形状就要更复杂一些，如草履虫像鞋底状，眼虫呈梭形且带有长鞭毛，而游扑虫和钟形虫则呈袋状(图 3-9)。

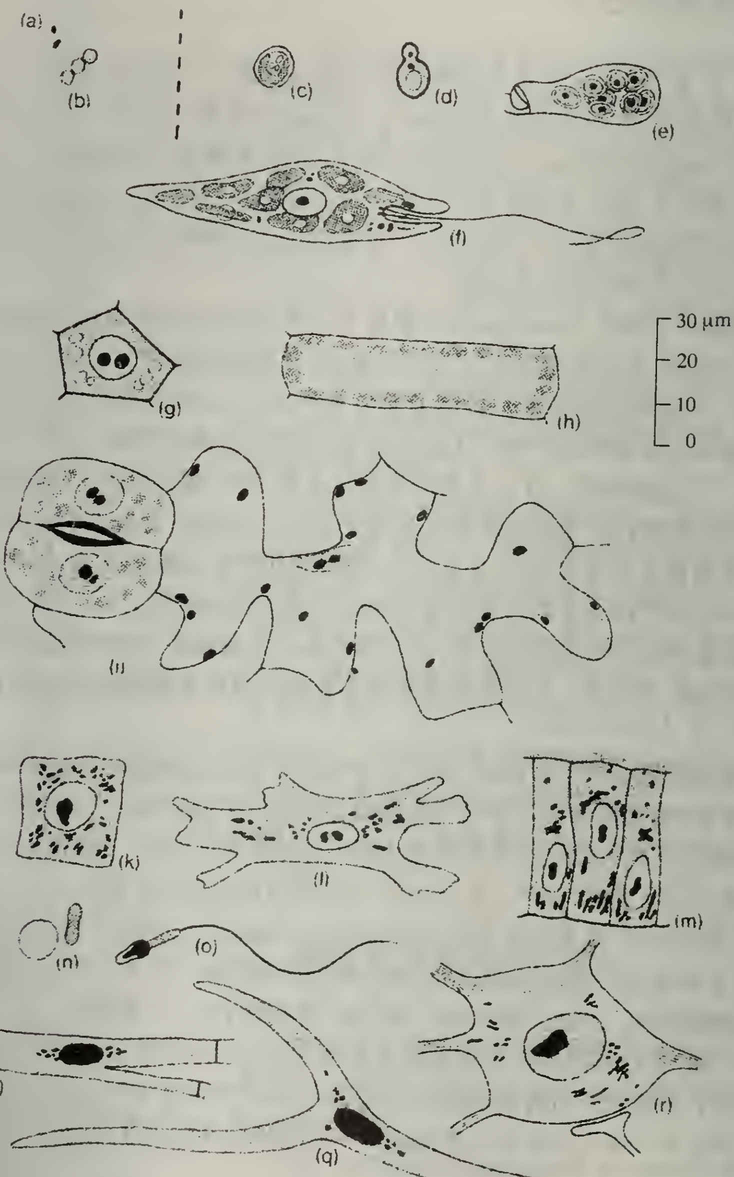
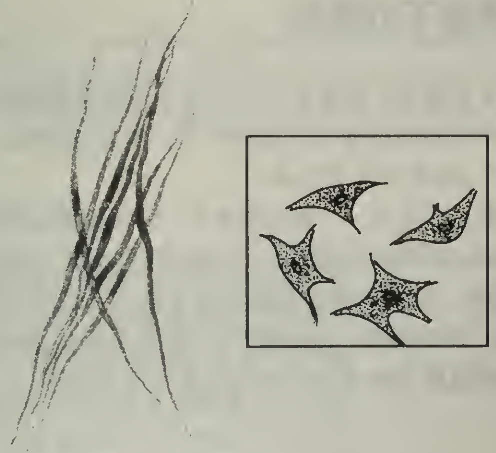


图 3-9　几种原核细胞和真核细胞的形状和大小的模式图

(a)大肠杆菌;(b)念珠藻(Nostoc);(c)小球藻(Chlorella);(d)酵母菌(Saccharomyces);(e)火丝菌(Pyronema)(含子囊孢子的子囊);(f)眼虫(Euglena);(g)植物茎尖分生组织细胞;(h)连翘(Forsythia)栅栏组织薄壁细胞(含叶绿体);(i)驴蹄草(Caltha)叶表皮细胞和气孔保卫细胞(含核和叶绿体);(k)大鼠肝实质细胞;(l)培养的成纤维细胞;(m)肾近曲小管上皮细胞(带有刷状缘和基膜);(n)人红细胞;(o)人精子;(p)哺乳动物横纹肌细胞;(q)哺乳动物三极平滑肌细胞;(r)中枢神经系统神经元本体部分(仿 Lehrbuch, E. 1984)

高等生物是多细胞有机体，其细胞大都构成了组织。体内各种细胞发生了结构和

功能上的分化,而细胞的形状往往与细胞执行的功能和存在的位置有一定的关系。如动物体内具有收缩功能的肌肉细胞呈长条形或长梭形;红细胞为圆盘状,有利于 O_2 和 CO_2 的气体交换。高等植物细胞的形状也因所承担的功能不同而有很大的差别。例如植物茎部起支持和输导作用的细胞常成条形；而叶表皮的保卫细胞则成半月形，2 个细胞围成一个气孔,以利于呼吸和蒸腾(图 3 - 8 之(i))。由此可见,形态结构与功能的统一是生物体细胞的一个重要特征。此处我们所描述的细胞形状是指活细胞在体内时的形态，在体内环境中细胞间建立了相互协同关系，单个细胞当然要与所处的环境相适应。一旦细胞离开了有机体分散存在时,形状就要发生很大的变化。例如,平滑肌细胞在体内成梭形,而在离体培养时则可成多角形(图 3 - 10)。



A B

图 3 - 10 体内功能状态之平滑肌细胞与体外培养者的形态比较

A. 分离出的猫胃壁平滑肌细胞;B. 培养三代的脐静脉平滑肌细胞示意图

生物体各种细胞的体积大小差别很大,大的如鸵鸟蛋的卵黄,直径可达 5cm,而最小的支原体只有 0. 1μm。一般说来，真核细胞的体积要大于原核细胞，高等动物的卵细胞要大于体细胞。但卵细胞是一种特殊类型的细胞,它含有许多供胚胎发育使用的营养物质——卵黄,从而使细胞的体积增大了许多倍。对大多数动植物细胞来说体积一般在 20 ~ 30μm 间。多细胞生物,细胞的大小与生物个体的体积无关。细胞体积的最小极限取决于维持细胞独立生活所需的最基本的成分须占的体积。根据推算,枝原体的体积（直径 0. 3μm）接近于容纳必需成分的极限。有的枝原体所含的核酸仅够指导合成 400 余种不同的蛋白质,包括所必需的酶和结构蛋白。细胞要进行生命活动,体积也不能过大，表面积与细胞的体积之比要适合，比值太小则不利于同外界进行物质交换。表 3-4 列出了几种细胞的大小。

表 3 – 4 几种细胞的大小

细胞名称	人卵	变形虫	海胆卵	肝细胞	红细胞	伤寒菌	流感菌	肺炎球菌
大小(μm)	120	100	70	20	7	2.4×0.5	0.5×0.2	0.2×0.1

第五节 细胞的化学组成

细胞是由多种化学物质组成的，这些物质可分为两大类：无机物和有机物。在无机物中水是最主要的成分，约占细胞物质总含量的 75% ~ 80%，在胚胎细胞中甚至可达 95%。下面我们对构成细胞的主要物质做一简介。但是需要说明的是，这一简介并不意味着是生物化学的概括复述，而只是从细胞结构和生命活动角度，来介绍构成细胞的化学物质的物理化学性质和作用，以期读者能从分子水平上对细胞的结构和生命活动有更深刻的理解。

一、水是原生质最基本的物质

水在细胞中不仅含量最大，而且由于它具有一些特有的物理化学属性，使其在生命起源和形成细胞有序结构方面起着关键的作用。可以这样说，如果地球上没有水，也就不会有细胞的产生，也就不会有生命。

水在细胞中以两种方式存在：一种是游离水，约占细胞总水量的 95%；另一种是结合水，通过氢键或其他键同蛋白质结合，此种水约占 4% ~ 5%。随着细胞的生长和衰老，细胞的含水量逐渐下降。但是活细胞的含水量不会低于 75%。水在细胞中的主要作用是，溶解无机物、调节温度、参加酶反应、参与物质代谢和形成细胞有序结构。水之所以具有这么多的重要功能是和水的特有属性分不开的。

1. 水分子是偶极子

从化学结构上看，水分子似乎很简单，仅是由 2 个氢原子和 1 个氧原子构成 (H_2O)。然而水分子中的电荷分布是不对称的，一侧显正电性，另一侧显负电性，从而表现出电极性，是一个典型的偶极子 (图 3 - 11)。正由于水分子具有这一特性，它既可以同蛋白质中的正电荷结合，也可以同负电荷结合。蛋白质中每一个氨基酸平均可结合 2.6 个水分子。

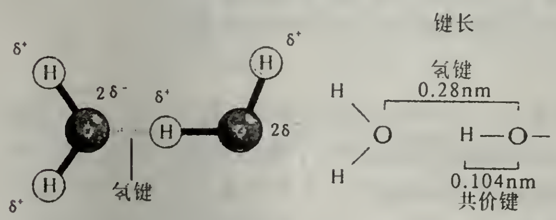


图 3 - 11 水分子偶极子示意图

由于水分子具有极性，产生静电作用，因而它是一些离子物质(如无机盐)的良好溶剂。如 NaCl 溶于水中后，Na^+可吸引水分子中显负电性的 O^{2-}，而 Cl^-则可吸引带正电性的 H^+，因则在 Na^+和 Cl^-周围分别形成了一层水(图 3 - 12)。

2. 水分子间可形成氢键

由于水分子是偶极子，因而在水分子之间和水分子与其他极性分子间可建立弱作用力的氢键。在水中每一氧原子可与另两个水分子的氢原子形成两个氢键 (图 3 - 13)。氢键作用力很弱，因此分子间的氢键经常处于断开和重建的过程中。

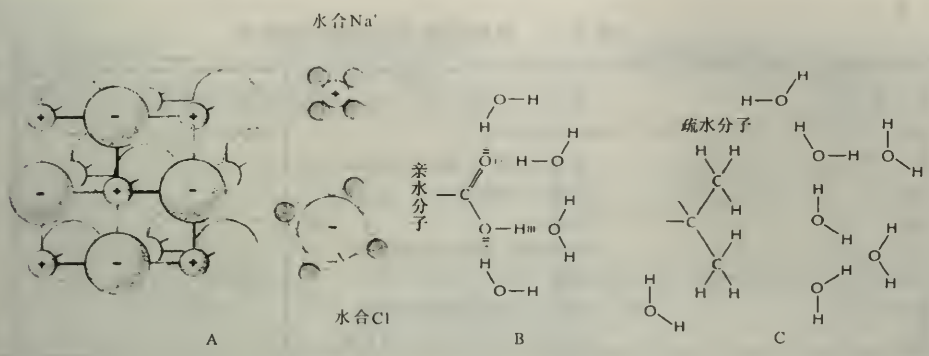


图 3-12 水分子与亲水性和疏水性分子相互作用关系
A. 水分子可在离子周围形成水层；B. 水分子可与亲水性分子形成氢键；
C. 非极性分子为疏水性分子，不能与水分子形成氢键

3. 水分子可解离为离子

水分子有一个很重要的特性，就是可解离为氢氧离子(OH^-)和氢离子(H^+)。在标准状况下总有少量水分子解离为离子，大约有 10^7mol/L 水分子解离，相当于每 10^9 个水分子中就有 2 个解离。但是水分子的电解并不稳定，总是处于分子与离子相互转化的动态平衡之中。H^+的摩尔浓度变化直接对细胞的 pH 值产生影响，因为：

$$pH = \lg(1/[H^+])$$

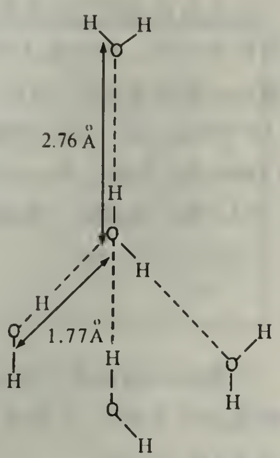


图 3-13 水分子间形成氢键示意

二、无机离子

在大多数细胞中无机盐的含量很少，不到细胞总重的 1%。盐在细胞中解离为离子，离子的浓度除了具有调节渗透压和维持酸碱平衡的作用外，还有许多重要的是作用。例如某些酶需要在某种离子一定的浓度下才能保持活性。表 3-5 列出了一些阳离子在细胞中的主要作用。阳离子在细胞内的运动变化总是与等量的阴离子配合平衡。主要的阴离子有 Cl^-、PO_4^-和 HCO_3^-，其中磷酸离子在细胞代谢活动中最为重要：①在各类细胞的能量代谢中起着关键作用；②是核苷酸、磷脂、磷蛋白和磷酸化糖的组成成分；③调节酸碱平衡，对血液和组织液中 pH 起缓冲作用。

三、细胞的有机分子

细胞中有机物达几千种之多，约占细胞干重的 90% 以上，它们主要由碳、氢、氧、氮等元素组成。有机物中主要是由分子量很大的三大类分子所组成，即蛋白质、核酸和糖，这些分子称为大分子（macromolecules）。每种大分子是由几种称为单体

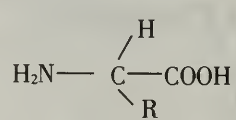
表 3-5　某些阳离子在细胞中的作用

离子种类	在细胞中的作用
Fe^{2+} 或 Fe^{3+}	血红蛋白、细胞色素、过氧化物酶和铁蛋白的组成成分
Na^{+}	维持膜电位
K^{+}	参与蛋白质合成和某些酶促合成
Mg^{2+}	叶绿素、磷酸酶、$Na^{+}-K^{+}$泵
Mn^{2+}	肽酶
Cu^{2+}	酪氨酸酶、抗坏血酸氧化酶
Co^{2+}	肽酶
Mo^{2+}	硝酸还原酶、黄嘌呤氧化酶
Ca^{2+}	钙调素、肌动球蛋白、ATP 酶

(monomers)的若干小分子聚合而成。此外,还有一种主要有机成分是脂类(lipid),脂类分子的大小介于大分子与小分子之间。

(一)蛋白质

在生命活动中,蛋白质是一类极为重要的大分子,几乎各种生命活动无不与蛋白质的存在有关。蛋白质不仅是细胞的主要结构成分,而且更重要的是,生物专有的催化剂——酶是蛋白质,因此细胞的绝大部分代谢活动离不开蛋白质。一个细胞中约含有 10^4 种蛋白质,分子的数量达 10^{11} 个。蛋白质是由氨基酸组成的,氨基酸均含有—COOH 基,本质上是一类有机酸。在邻接—COOH 基的 α 碳原子上还结合有氨基($—NH_2$)和一条侧链。氨基酸的通式为:



生物体内构成蛋白质的基本氨基酸有 20 种,根据 R 侧链的性质不同,可把这 20 种氨基酸分为四类:非极性 R 基、不带电荷极性 R 基、带正电荷极性 R 基、带负电荷极性 R 基(图 3-14)。

蛋白质有如下几种属性与其在细胞中的作用密切相关:

(1)组成肽链的氨基酸含有一个氨基($—NH_2$)和一个羧基(—COOH),氨基酸在水溶液中时,—COOH 可离解成$—COO^-$和 H^+离子,故氨基酸是显酸性的两性离子。氨基酸构成肽链后,一个氨基酸的羧基和另一个氨基酸的氨基缩合成肽键,不再显示两性离子的性质。

(2)氨基酸的属性由侧链(R)来决定。甘氨酸的 R 链为 H 原子;丙氨酸的为 CH_3 侧链;半胱氨酸和甲硫氨酸的侧链中含有 S 原子。从图 3-14 可以看出,有 8 种氨基酸的 R 链为非极性的,不能与水分子相互作用,故为疏水性(hydrophobic)氨基酸。其余 12 种均具有极性 R 侧链可与水相互作用,故为亲水性(hydrophilic)氨基酸,其中有 5 种的 R 链不带电荷。

(3)氨基酸之间通过建立肽键形成多肽链。肽链的一端为 NH_2 称为氨基端;另一端为羧基端(—COOH)。肽链的合成方向是由氨基端向羧基端进行连接。这种线性肽链结构,称为蛋白质的一级结构(primary structure)。有的蛋白质对一级结构要求很严格,只要有一个氨基酸发生改变,蛋白质的性质即要改变。例如血红蛋白,它是由 4 条

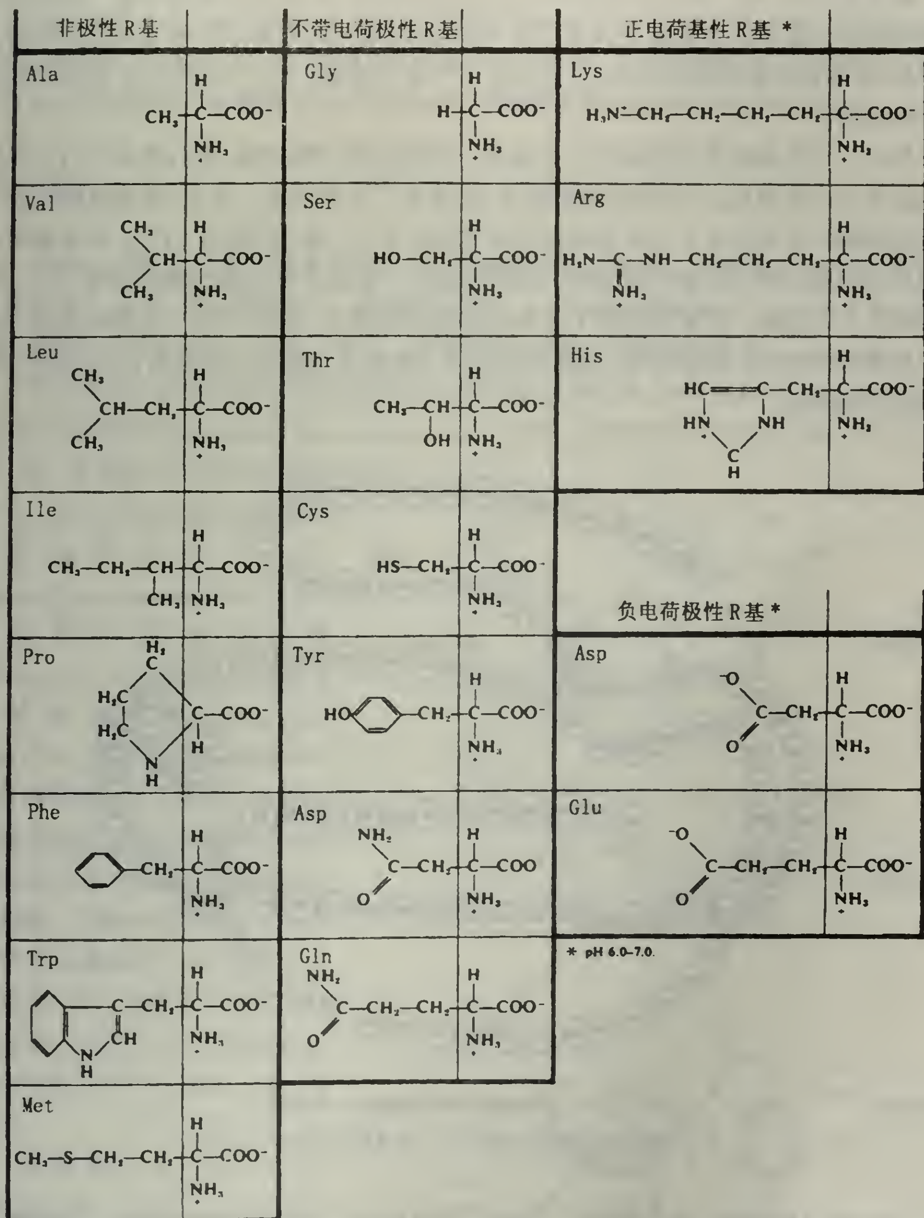


图 3-14　20 种氨基酸的基本性质

多肽链组成，2 条 α 和 2 条 β 链，β 链为 146 个氨基酸，然而只要第 6 号位的谷氨酸被缬氨酸所代替，即造成了镰刀红细胞贫血这种遗传病。但有的蛋白质对一级结构的要求并不那样严格，例如酵母和人的细胞色素 c 在呼吸链中都是有活性的蛋白质，但是它们的一级结构差别很大，在 104 个氨基酸中二者就有 40 个不同。这说明，这些差别并不影响分子的呼吸活性区，活性区仍保持着所需要的构象。

(4) 肽链中的 C 原子连有一个 O 原子，而 N 原子共价结合有 H 原子，O 原子略显负电性，而 H 原子略显正电性，故肽链可通过链内建立氢键而形成 α 螺旋和 β 折叠。链内形成这种立体结构，称为二级结构 (secondary structure)。含有二级结构的肽链再

进一步部分折叠，即产生了三级结构(tertiary structure) R 基在形成蛋白质三级结构中起关键作用。疏水性 R 基由于具有与水不亲合性，通过这种疏水性相互作用多肽链发生折叠，R 基被折叠到结构内部，从而避开了与水的接触。反之，亲水性 R 基则伸向蛋白质的表面。

具有一定氨基酸序列的肽链可折叠成一种或几种三维构象。蛋白质分子的一级结构决定着其三级结构，三级结构遭到破坏，即丧失了生物活性。例如，核糖核酸酶分子的三级结构中存在着由 8 个半胱氨酸残基形成的 4 个二硫键（图 3 - 15），如果将酶分子放入含巯基乙醇和尿素的溶液中，活性即丧失。这是由于巯基乙醇将酶分子的二硫键还原为 2 个巯基，尿素则损伤了另外的弱化学作用力，酶分子的三级结构遭到了破坏。如果除掉巯基乙醇和尿素，则变性的酶分子恢复了自然的三级结构，分子复性，重新具有生物活性。

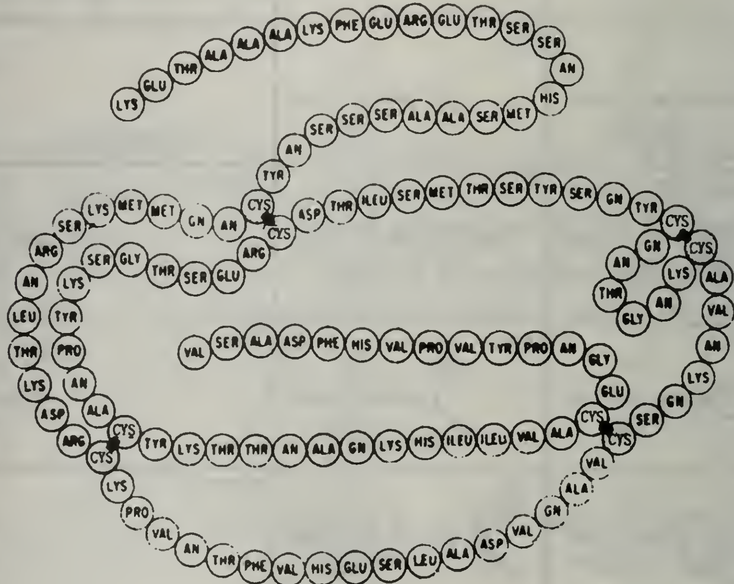


图 3 - 15　牛胰腺核糖核酸酶的一级结构

有 4 个部位在胱氨酸之间建立了二硫键桥（自 Anfinsen，C. B.）

有的蛋白质是由几条肽链构成，形成了四级结构（quaternary structure），如抗体分子即是由 4 条折叠肽链通过几种作用力（包括二硫键）结合而成。

在这里需要特别提及的是蛋白质分子的构型（configuration）和构象（conformation）的变化，许多蛋白质分子的生物活性往往与这两种物理化学变化有关，如受体蛋白、酶和转录因子等，它们的活性状态都涉及到构象的变化，读者在阅读本书有关内容时应当与学习过的蛋白质生物化学结合思考。

(5) 形成蛋白质和大分子结构的作用力除了有肽键和二硫键外，尚有几种弱作用力(非共价键)对分子的三维结构的形成具有重要作用。这些弱作用力有如下几种：

①离子键：电荷性质相反的离子基团间的相互引力，如氨基和羧基间的作用力。

②氢键：两个负电离子共用一个质子(H^+)形成的键(图 3 - 13)。

③疏水力：在水溶液中非极性基的相互引力。这种作用力可迫使疏水性侧链卷入

分子立体结构的内部。

④范德瓦尔力：由于两个分子相互靠近而引起电荷波动所产生的相互引力。

这些非共价键作用力虽然很弱，但是如果数量大，也会对稳定分子结构起重要作用。例如，蛋白质的 α 螺旋结构和 DNA 的双螺旋结构即是靠氢键来维持的。

(二)核酸

核酸是生物遗传信息的载体分子，所有生物均含有核酸。核酸是由核苷酸单体聚合而成的大分子。核苷酸均由一个核糖(戊糖)、一个碱基和磷酸基(PO_4)所组成。核糖和碱基结合，形成核苷(nucleosides)。核苷结合上磷酸即成为核苷酸(nucleotides)。

根据碱基(嘧啶或嘌呤)的性质不同，核苷可分为两类，即嘧啶核苷(pyrimidine nucleosides)和嘌呤核苷(purine nucleosides)。由于戊糖二位碳原子上连接的基团不同(—OH 或—H)核苷酸又分为核糖核苷酸(—OH)(ribonucleotides)和脱氧核糖核苷酸(—H)(deoxyribonucleotides)两大类，并分别构成核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)和脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)两种核酸。核酸中均含有磷酸基，故显酸性。核酸分子链是通过由核苷酸中 5′磷酸根同相邻核苷酸的 3′核糖间形成磷酸二酯键相连而成，从而使核酸分子链具有 5′末端和 3′末端的方向性，核酸分子链这一结构特点对核酸分子链的聚合反应和编码序列至关重要(图 3－16)。

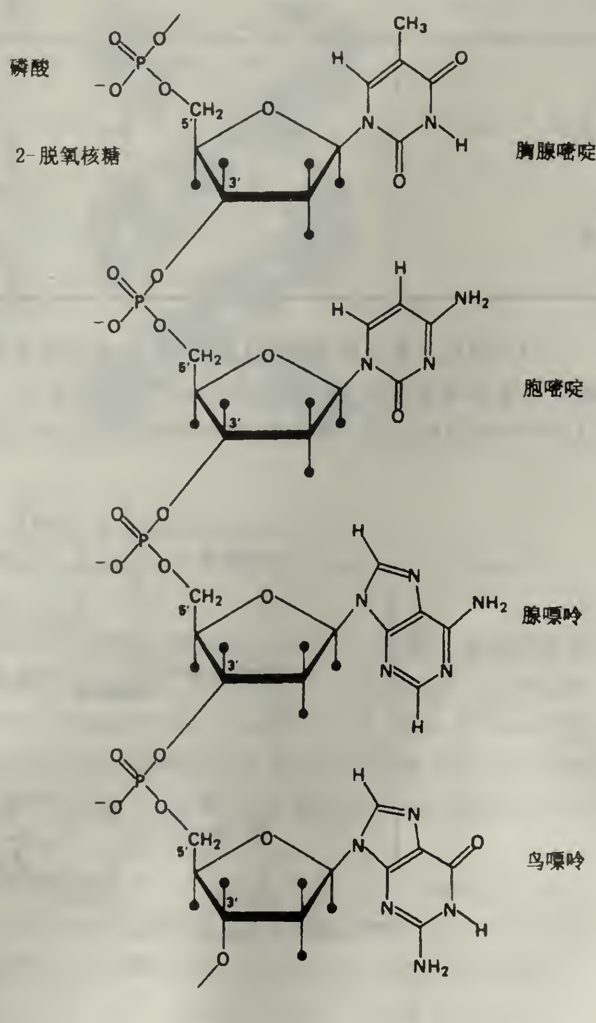


图 3－16 DNA 核苷酸链的分子结构

DNA 核苷酸链中糖残基 3′位碳和相邻的 5′位碳之间形成磷酸二酯键，从而连接成一条单链。戊糖 1′位碳连接碱基

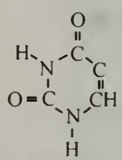
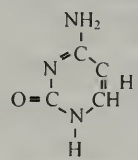
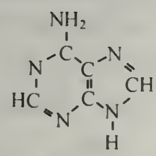
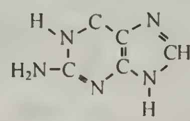
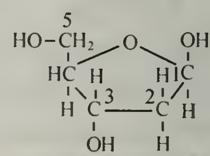
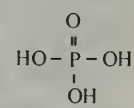
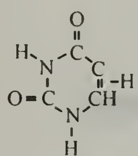
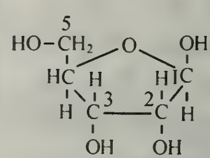
虽然 RNA 和 DNA 在分子结构上只有一个原子之差，但是它们在化学性质和生理功能上却有很大的差异，例如在分子合成途径、基因表达方式等方面均有所不同。总括起来，RNA 与 DNA 主要有以下几点不同：

(1) RNA 的核苷酸中均含有核糖；而 DNA 的核苷酸中均含有脱氧核糖。

(2) RNA 中的 4 种核苷酸为：尿嘧啶核苷酸 (uridylic-

acid, U)、胞嘧啶核苷酸(cytidylic acid, C)、鸟嘌呤核苷酸(guanylate; guanylic acid, G)和腺嘌呤核苷酸 (adenylate; adenylic acid, A); 而 DNA 中的则为: 脱氧胸苷酸(deoxythymidylic acid, T)、脱氧胞苷酸 deoxycytidylic acid, C)、脱氧鸟苷酸(deoxyguanylic acid, G)和脱氧腺苷酸(deoxyadenylic acid, A)(表 3-6)。

表 3-6　DNA 和 RNA 的核苷酸结构成分的比较

核酸	嘧啶		嘌呤		戊糖	磷酸
DNA	 胸腺嘧啶 (T)	 胞嘧啶 (C)	 腺嘌呤 (A)	 鸟嘌呤 (G)	 2-脱氧-D-核糖	
RNA	 绿嘧啶 (L)	同上	同上	同上	 B-核糖	同上

(3)RNA 大都以单链存在;而 DNA 一般通过氢键结合呈双链存在,两条链间核苷酸对总是依靠氢键以 G-C 对和 A-T 对互补结合。DNA 两条链的走向相反, 一条链以 5′→3′的方向与另一条链的 3′→5′的方向互补结合(图 3-17)。

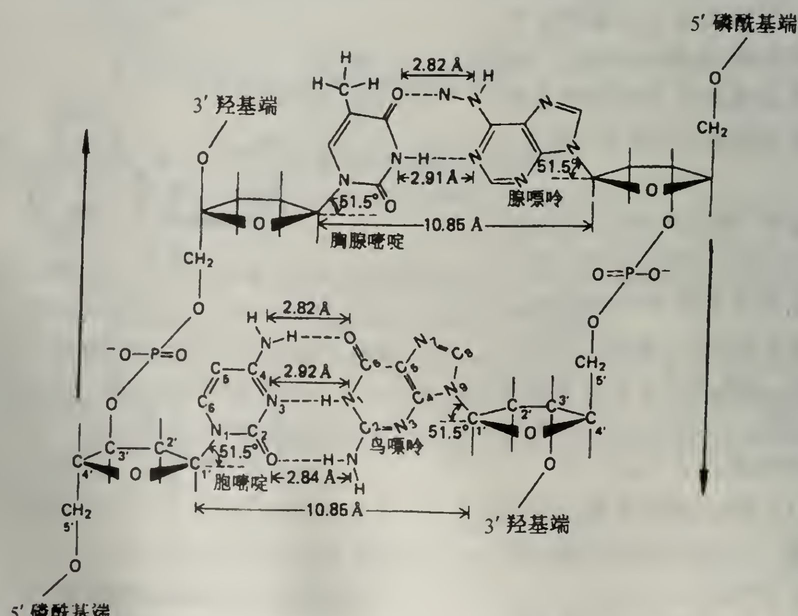
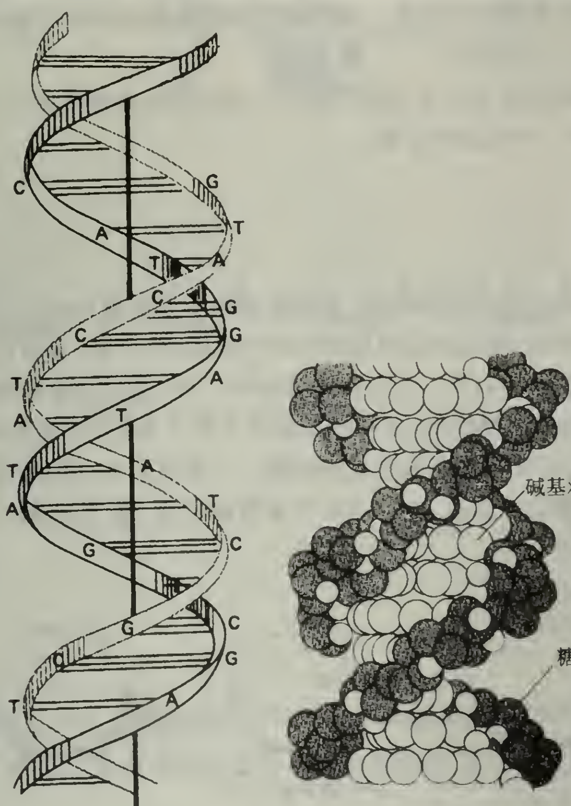


图 3-17　DNA 分子中两条互补链的嘧啶与嘌呤碱基配对总是 G-C 和 A-T,
两条链相互平行、走向相反

(4)配对碱基间形成的氢键数目不同,G—C 对间为 3 条,而 A—T 对间为 2 条。

(5)双链 DNA 分子通常形成双螺旋三维结构(图 3 - 18),这种结构是靠碱基对间的氢键和叠摞后相邻碱基间的疏水作用力来维持的。通过加热或改变 pH 值，可引起氢键打开,使双股链分离,这一分离过程称为变性(denaturation)或熔解(melting)。在标



(a) (b)

图 3 - 18 DNA 分子双螺旋结构示意图

(a)碱基的配对关系;(b)双螺旋中碱基和糖 - 磷酸干链的空间排列(自 White, A. et al. 1973)

准条件下，当温度上升到一定高度时，DNA 双链即解离为单链，这一温度称为熔解温度(melting temperture, Tm)。碱基组成不同的 DNA,熔解温度不一样,含 G≡ C 对(3 条氢键)多的 DNA，*Tm* 高；含 A = T 对(2 条氢键)多的，*Tm* 低。因而，DNA 的 *Tm* 值与 AT/GC 的比值成反比关系。当温度下降到一定温度以下，变性 DNA 的互补单链又可通过在配对碱基间形成氢键，恢复 DNA 的双螺旋结构，这一过程称为复性(renaturation)或退火(annealing)。

复性是分子生物学中的一种很有用的技术，可用来测定某一种生物基因组的大小，因为复性过程所需时间的长短与基因组的大小有关，基因组大的要比小的所需时间长。在真核细胞 DNA 中含有重复序列，重复序列的复性速度要比单一序列快得多，因此复性又可用来检测 DNA 的复性序列。近几年来分子生物学和细胞生物学中常用的技术——多聚酶链式反应(PCR)技术即是根据双链 DNA 的变性与复性原理设计出来的技术(详见第二章)。

(三)糖类

细胞中的糖类既有单糖,也有多糖。细胞中的单糖是作为能源以及与糖有关的化合物的原料存在。重要的单糖为五碳糖(戊糖)和六碳糖(己糖),其中最主要的五碳糖为核糖,最重要的六碳糖为葡萄糖。葡萄糖不仅是能量代谢的关键单糖,而且是构成多糖的主要单体。

多糖在细胞结构成分中占有主要的地位。细胞中的多糖基本上可分为两类:一类是营养储备多糖;另一类是结构多糖。

1. 营养储备多糖

作为食物储备的多糖主要有两种,在植物细胞中为淀粉(starch),在动物细胞中为糖原(glycogen)。淀粉在绿色细胞中是沉积在叶绿体内,在根、茎的无色细胞中则沉积在无色的白色体(leucoplast)内。白色体是质体的一种,沉积有淀粉的白色体称为造粉体(amyloplast)。淀粉粒呈颗粒状,在光学显微镜下即可见到。淀粉粒中有两类分子,均为由葡萄糖经 α-1, 4- 糖苷键连接而成的多糖。一类是不分支的分子,称为直链淀粉(amylose). 每一直链分子含有 250～300 个葡萄糖单元(图 3－19),直链分子均卷成中空的螺旋结构。

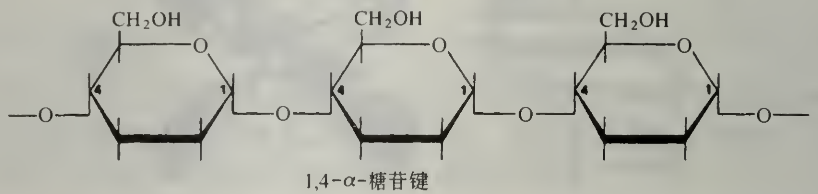


图 3－19　直链淀粉中的葡萄糖单元以 1,4－α－糖苷键相连

另一类淀粉分子有分支,称为支链淀粉(amylopectin)。每一支链是由 24～30 个葡萄糖单元以 1,4－糖苷键连接成的多糖链,各支链间又以 1,6－糖苷键相连。在分支部位,葡萄糖残基在 4′C 和 6′C 两处发生置换。支链淀粉约含有 1 000 个以上的葡萄糖单元。

糖原是存在于动物细胞中的贮存食物,又称动物淀粉。糖原存在于细胞质中,肝细胞中特别丰富。糖原分子结构与支链淀粉类似,亦为由 1, 4- 糖苷键连成的多糖支链,再以 1,6- 糖苷键相结合(图 3－20)。但糖原的支链要比支链淀粉的短得多,只由 8～20 个葡萄糖单元组成,因而糖原具有更多的分支。糖原分子的葡萄糖单元数亦较多,约含有 30 000 多个。糖原经磷酸化酶作用后,形成葡萄糖－1－磷酸,再在酶的作用下,转化成葡萄糖 -6- 磷酸,参加 Embden Meyerhof 途径代谢。

此外,在某些植物中,由果糖单元构成的菌粉,亦是一种营养性多糖。

2. 结构多糖

构成结构多糖的糖单元,有的是葡萄糖,有的是含氨基的葡萄糖。在真核细胞中的结构多糖主要有纤维素(cellulose)和几丁质(chitin)。

纤维素是生物合成最丰富的大分子,是构成细胞壁的主要成分。它约由 8 000 个

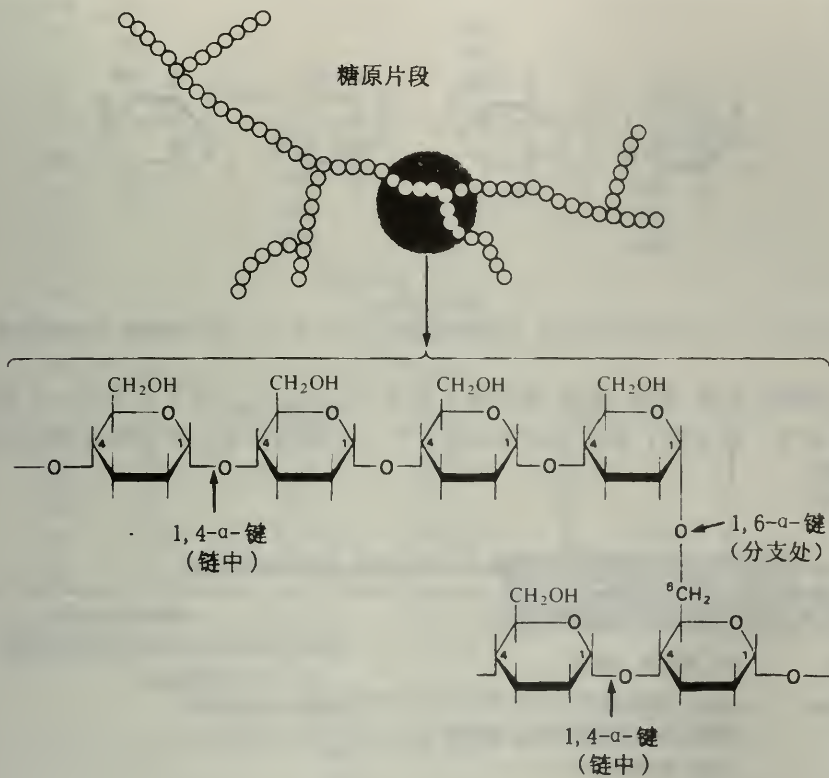


图 3－20 糖原结构示意图

链中葡萄糖单元以 1,4－α－糖苷键相连,分支处以 1,6－α－糖苷键相连,支链淀粉的结构与糖原类似

葡萄糖单元经 1,4－β－糖苷键连成的不分支的多糖链(图 3－21)。多糖链褶叠成原纤维,再组成束。

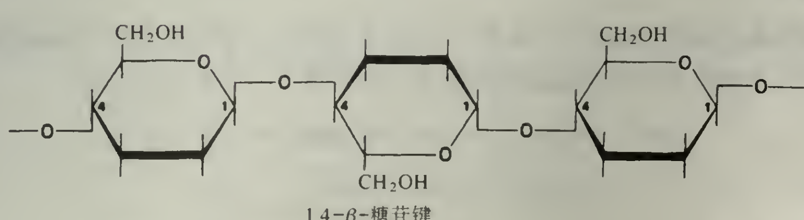
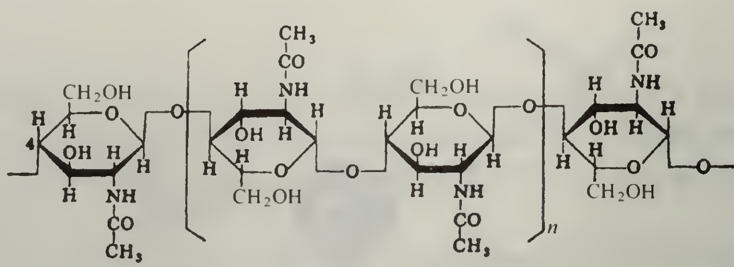


图 3－21 纤维素分子中以 1,4－β－糖苷键连成多糖链,
某些植物的纤维素分子是以 1,3－β 糖苷键相连

几丁质是昆虫和甲壳类等无脊椎动物外骨骼的主要成分,也是构成许多真菌细胞壁的成分。几丁质是含氮的多糖,由 N- 乙酰葡糖胺残基以 1,4－β－糖苷键连接而成(图 3－22)。N- 乙酰葡糖胺为葡萄糖的衍生物,所构成的多糖不分支。

(四)脂类

细胞内脂类化合物不构成大分子,其种类很多,包括有脂肪酸、中性脂肪、类固



儿丁质单元链

图 3-22　儿丁质分子是由 N-乙酰葡糖胺单元以 1,4-β-糖苷键相连,形成多糖链

醇、蜡、磷酸甘油酯、鞘脂、糖脂、类胡萝卜素等(表 3-7)。脂类化合物的一个重要属性是难溶于水，而易溶于非极性的有机溶剂中。下面仅介绍几种主要脂类的性质和作用。

表 3-7　细胞中几种主要脂类化合物的分布

脂类名称	化合物代表	在细胞中的分布
脂肪酸	油酸、棕榈酸、硬脂酸	细胞质溶质(cytosol)、线粒体、含脂肪种子中的乙醛酸循环体
中性脂肪	植物油、动物油脂	细胞中储备脂肪
磷脂	磷脂酰乙醇胺、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇	膜
鞘脂	鞘磷脂	膜
糖脂	脑苷脂、节苷脂	膜
类固醇	胆固醇	膜
萜	类胡萝卜素	植物细胞质溶质、叶绿体

1. 脂肪酸

脂肪酸在细胞和组织中含量极少,它的重要性在于它是组成若干种脂类物质的基本成分。脂肪酸分子是不分支的烃链,其一端为羧基。分子的通式是:

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ (CH_2)_n \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

脂肪酸分子的羧基端具有高度极性,是水溶性的;烃链部分为高度非极性的,为水不溶性的。因此,脂肪酸分子与水发生作用时,以亲水性的羧基伸入水中,而分子的烃链则伸在水表面的外面(图 3-23)。脂肪酸分子中碳氢链的结构形式具有很重要的生物学作用。有的脂肪酸碳氢链的碳原子之间全部为单键,此类脂肪酸是为饱和脂肪酸(saturated fatty acid);而另一些脂肪酸的碳氢链中含有一个或几个双键,是为不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acid)。两类脂肪酸的化学性质有明显的不同,例如不饱和脂肪酸的熔点要比饱和脂肪酸的低,所有的不饱和脂肪酸在室温下都处于液态。此外,脂肪酸碳氢链的长度和双键的位置对脂肪酸的性质也有很大的影响。由于脂类物质是构成生物膜的基本物质,因此对脂肪酸的这些化学性质,不可不予以重视。

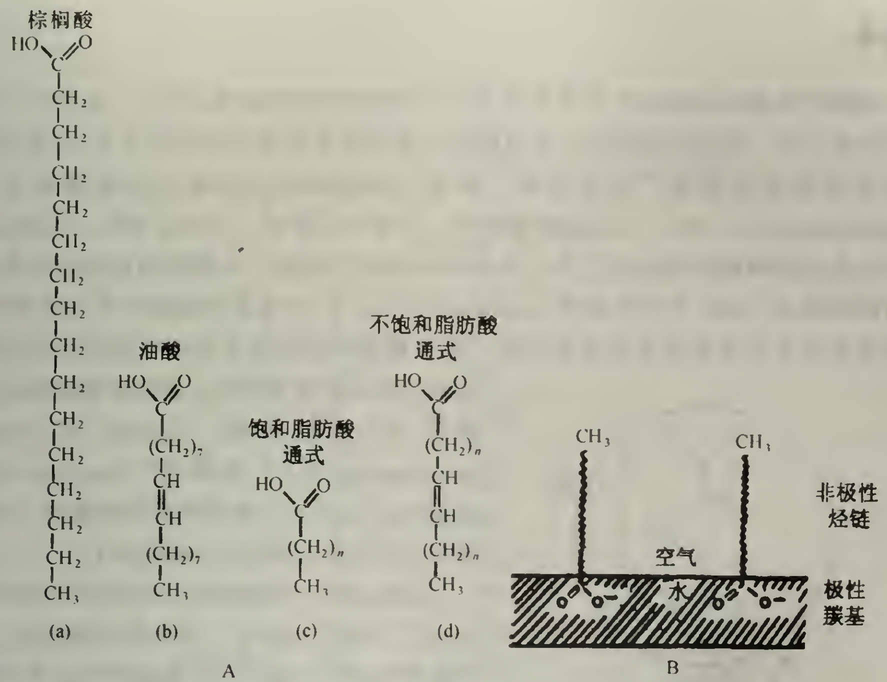


图 3-23　脂肪酸的分子结构和与水的相互作用

A. 几种脂肪酸的分子结构式;B. 示羧基伸入水中,烃链伸出水表面

2. 中性脂肪

醇甘油的脂肪酸酯称中性脂肪(neutral fat)或甘油酯。它是脂肪酸的羧基同甘油的羟基结合形成的甘油三酯(triglyceride)。甘油酯是动物和植物体内脂肪的主要贮存形式(图 3-24)。当体内碳水化合物、蛋白质或脂类过剩时,即可转变成甘油酯贮存起

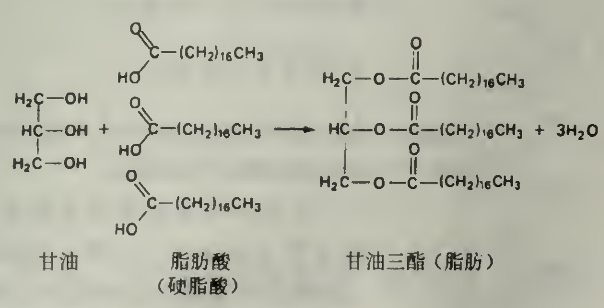


图 3-24　中性脂肪(甘油三酯)的分子结构通式

来。甘油酯为能源物质,氧化时可比糖或蛋白质释放出高两倍的能量。营养缺乏时,就要动用甘油酯提供能量。

如果脂肪酸同乙醇酯化则形成了蜡(如蜂蜡)。蜡的碳氢链很长,熔点要高于甘油酯。细胞中不含蜡质,但有的细胞可分泌具有保护作用的蜡质。例如植物表皮细胞的角质层表面有一层蜡膜;有的动物具有蜡腺,分泌蜡质,如高等动物外耳道的盯聍腺。

3. 磷脂

磷脂对细胞的结构和代谢至关重要，它是构成生物膜的基本成分，也是许多代谢途径的参与者。两个脂肪酸分子通过酯桥分别连接在甘油的两个羟基上，甘油的第三个羟基被酯化成磷酸，从而形成了磷脂（phospholipid），有的形成磷酸甘油酯（phosphoglyceride）（图 3 - 25）。磷脂具有一个亲水头部和一个疏水尾部，头部是由一个带负电荷的磷酸残基结合上带正电荷的有机分子组成，尾部则是由两个非极性的脂肪酸链组成，因此，是双性脂类（amphipathic lipid）。无论是在细胞内还是在细胞外，它都是水相与非水相的重要连接介质。膜中磷脂的存在对于亲水性和疏水性物质的穿膜运输有着重要作用。动物细胞质膜的主要磷脂成分为脑磷脂（cephalin ethanolamine phosphoglyceride）、卵磷脂（lecithin choline phosphoglyceride）。细菌质膜和线粒体、叶绿体膜中还有一种心磷脂（cardiolipin）。

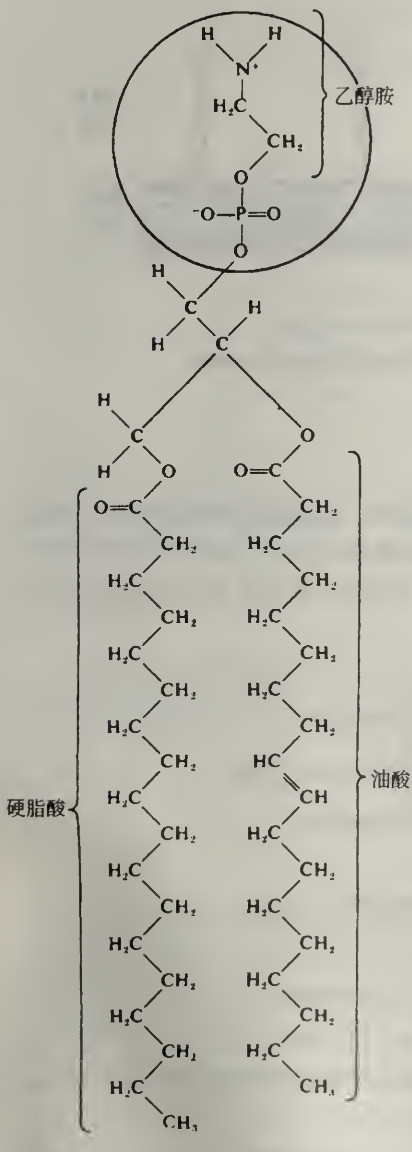


图 3 - 25　磷脂酰乙醇胺分子结构式
示亲水头部（圆圈内）和疏水尾部（碳氢链）

实验证明，卵磷脂同水作用时有自然形成双分子"片层"的属性。分子亲水端向水，而疏水端背水。这一属性对生物膜的形成有着重要意义。

鞘脂和糖脂也是构成细胞膜的成分，其性质与磷脂类似，分子也具有亲水头和疏水尾两部。鞘脂中没有甘油成分，而且其尾部有一条脂肪酸链为鞘氨醇（sphingosine）所代替。鞘脂在神经髓鞘中特别丰富，其中以鞘磷脂（sphingomyeline）最为常见（图 3 - 26）。鞘脂的头部结合有带极性的亲水性碳水化合物，如 D-葡萄糖和 D-半乳糖等。

4. 萜类和类固醇类

这两类化合物都是异戊二烯（isoptene）的衍生物，都不含脂肪酸。

生物中主要的萜类化合物有胡萝卜素和维生素 A、E、K 等。还有一种多萜醇磷酸酯，它是细胞质中糖基转移的载体，起辅酶的作用。关于多萜醇磷酸在蛋白质糖基化中的作用可参见第十四章糖蛋白合成部分。

类固醇类（steroids）化合物又称甾类化合物，其中胆固醇是构成膜的成分。另一些甾类化合物是激素类，如雌性激素、雄性激素、肾上腺激素等。

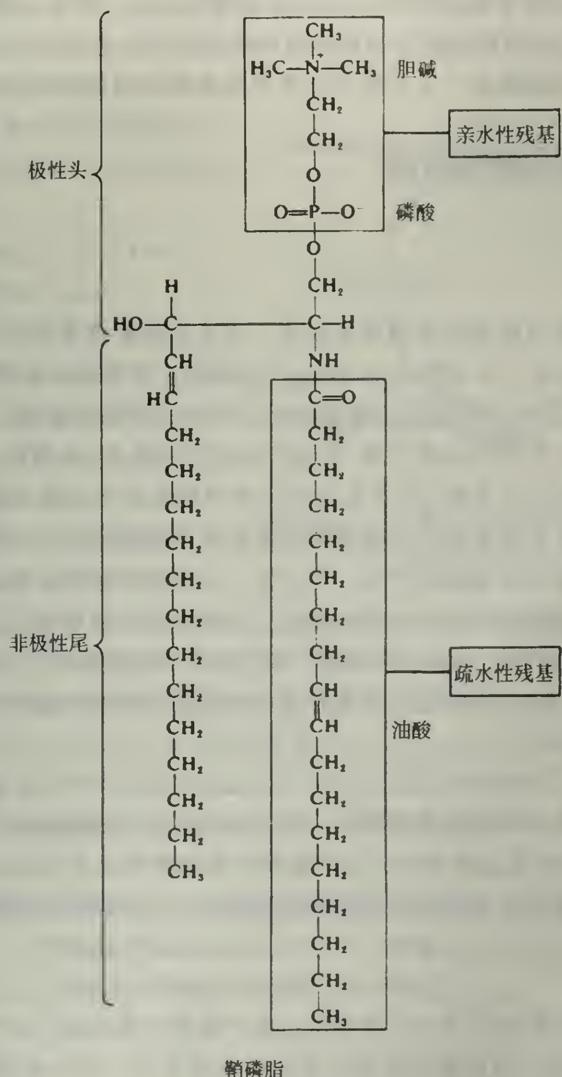


图 3-26 鞘磷脂的分子结构

亲水头部含磷酸胆碱;疏水尾含有鞘氨醇

第六节 细胞的能量代谢与生物催化剂

活细胞的生命活动表现为遗传、代谢和生理等活动,这些活动无不与物质的有关化学反应有关。与非生命界一样,细胞的化学反应也涉及到能量的转化。细胞是高度有序的复杂结构,要维持这样的有序结构也要消耗能量。细胞一旦失去能量供应,就要解体死亡。从本质上讲,生命活动就是能量转化活动。我们所说的新陈代谢过程就是能量的转化与代谢过程。

在物理学上,物体的能量交换称为热力学(thermodynamics);而在生物学中,研究生物体的能量转化,则称为生物能学(bioenergetics)。

我们要研究能量转化,就要把研究对象——体系与外界区分开来。体系由初始状

态经变化同外界达到平衡时的终末状态，在此变化过程中要发生能量交换。体系不是从外界吸能，就是向外界放能。细胞内的各种代谢活动也是属于这种性质的，而且符合热力学规律。细胞即是一个不断与外界交换物质和能量的开放体系。

一、细胞能量代谢的特点

1. 自由能

细胞内各种反应都伴随有能量的变化。为了用数学语言反映出反应的方向性，美国数学家 Gibbs 提出了自由能(free Energy)的概念。所谓自由能简言之即是指在温度和压力一定的条件下，反应系统总能量中用于作功的那部分能量。

如果一种反应导致自由能下降，则该反应会自然发生。也就是说，如果产物的总自由能小于反应物的总自由能，那么在反应过程中释放出自由能，这便说明反应的自由能下降了。任何自然发生的反应都是朝着最低自由能状态进行。用 G 代表自由能，用 ΔG 代表反应系统中自由能的变化。在习惯上，一种反应导致自由能下降，则 ΔG 为负值，此即称为放能反应(exogonic reaction)。因此，ΔG 是负还是正，决定了反应能否自然发生。从理论上讲，ΔG 为负值时，即代表反应完全时所产生的功或有用能量的最大值；ΔG 为正值时，则表示反应进行完全时所需功或能的最小值。

2. 自由能偶联

在细胞内有许多反应是需能反应，不能自发进行。然而细胞中有一些自然发生的反应是放能反应，反应过程中所产生的能量可被用来驱动非自发反应，如果这两种反应过程的总自由能下降，那么它们就有可能使两种反应过程得到偶联。例如：

$$A \rightarrow B \qquad \Delta G = +5.0\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$C \rightarrow D \qquad \Delta G = -20\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

反应 A→B 不能自然发生；而 C→D 是自由能下降的放能过程，故可自然发生。如果这两种反应偶联起来，而且两种反映的总自由能是负值，那么吸能反应 A→B 就可进行。从上列公式可以看出，两种反应偶联后，$A + C = B + D \quad \Delta G = -15\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$，细胞中一切非自然发生过程都可通过这种能量偶联机制进行。

3. 能量传递的 ADP-ATP 系统

细胞内通过反应过程偶联机制，使放能过程驱动吸能过程进行。实际上，细胞的许多代谢装置的结构安排有利于产能反应(营养分子的分解)和需能反应(细胞成分的合成)偶联进行。然而我们知道，细胞是内部结构有序、分工明确、协作严密的立体结构。许多需能反应与放能反应在空间结构上是彼此隔开的，两种过程不可能直接偶联。例如真核细胞中的线粒体，主要是一种进行呼吸作用的放能细胞器。然而它所释放的能量，大部分不是用于自身吸能反应的需要，而是为细胞其他部分的吸能反应提供能量。线粒体通过呼吸作用产生了一种高能小分子——ATP(腺苷三磷酸)，成了能量转移的载体分子。许多吸能反应即是利用 ATP 所携带的能量。

由此可见，细胞的能量偶联大都是间接的。在放能和需能反应之间介有中间循环系统。中间循环系统起“蓄电池”的作用，它把放能反应释放的能量贮存起来，再转运

到需能部位，驱动吸能反应。细胞放能反应释放的自由能可用于驱动 ADP(腺苷二磷酸)同磷酸的吸能反应，合成 ATP。而 ATP 再被用来驱动吸能反应。这一过程可用图 3-27 加以说明。由此可见，ATP 的合成与分解便成了能量转运和偶联的中间环节。ATP 的合成是按下列等式进行的：

$$ADP + H_3PO_4 \rightarrow ATP + H_2O$$

$$\Delta G = +30kJ \cdot mol^{-1}$$

当某一吸能过程需要能量时，上述反应又可反转进行，再把贮存的能量释放出来。反应如下进行：

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + H_3PO_4$$

$$\Delta G = -30kJ \cdot mol^{-1}$$

这一反应是和吸能反应相偶联。

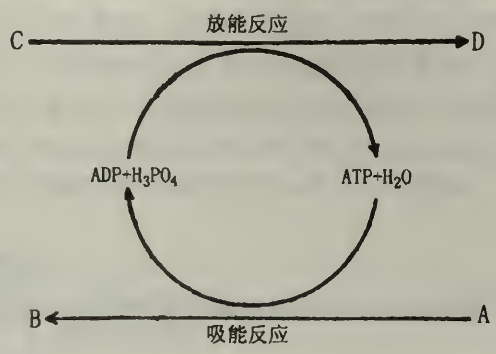


图 3-27　吸能反应与放能反应通过 ADP-ATP 系统间接偶联示意图

ADP-ATP 系统是一切细胞能量传递的主要途径。把 ATP 作为细胞中的能量传递载体分子来调控细胞内能量的流动过程是极其灵活有效的。当细胞内 ATP 含量下降时，就会发生这样的情况：①放能过程加速进行；②吸能过程速率减慢；③前两种变化兼有，直至将 ATP 的含量补足。反之，如果 ATP 含量过高时，则会发生与上述情况相反的变化。由于在细胞的大多数代谢过程中，ATP 是传递能量的中间载体，因而 ATP 往往有细胞"硬通货"之称。ATP 具有高能磷酸键（水解时，自由能降低超过 $20kJ \cdot mol^{-1}$ 的键称为高能键），每一键水解时，ΔG 为 $-30kJ \cdot mol^{-1}$。

ATP 水解同吸能反应偶联时，往往还要通过一个或多个反应过程，才能实现偶联。在传递过程中，ATP 高能键传给了另一个分子。例如，我们可以这样表示，$C + D \rightarrow E$ 的吸能反应同 ATP 水解偶联两种反应可简化为一种总反应：

吸能反应：$$C + D \rightarrow E—\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{\displaystyle O}{\overset{|}{P}}}}—OH$$

放能反应：$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + HO—\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{\displaystyle O}{\overset{|}{P}}}}—OH$$

总反应：$$C + D + ATP + H_2O \rightarrow E + ADP + HO—\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{\displaystyle O}{\overset{|}{P}}}}—OH$$

实际上这种反映在细胞内是这样进行的：

吸能反应：$$ATP + C \rightarrow C \sim P—\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{\displaystyle O}{\overset{|}{O}}}}H + ATP \qquad (1)$$

放能反应：$C\sim\underset{\substack{|\\OH}}{\overset{\substack{O\\|}}{P}}-OH + D + H_2O \rightarrow E + HO-\underset{\substack{|\\OH}}{\overset{\substack{O\\|}}{P}}-OH$ (2)

总反应：$C + D + ATP + H_2O \rightarrow E + ADP + HO-\underset{\substack{|\\OH}}{\overset{\substack{O\\|}}{P}}-OH$ (3)

在等式(1)中 ATP 的高能磷酸根传给了 C，C 成了高能化合物，反应(1)是一种吸能反应（平衡倾向于左方），但反应通过共同的中间化合物 $C\sim\underset{\substack{|\\OH}}{\overset{\substack{O\\|}}{P}}-OH$ 进到了反应(2)，而反应(2)是高吸能反应（平衡大大倾向于右方），于是便不断地移走 $C\sim\underset{\substack{|\\OH}}{\overset{\substack{O\\|}}{P}}-OH$，从而驱动反应(1)不断向右进行。这两种反应的偶联是因为一种反应的产物是另一种反应的反应物，因此这两种反应的惟一条件是共有同一种中间产物。当然此例并不一定是一切代谢偶联的唯一方式，但两种反应只要有共同的中间产物，而且总反应的自由能变化是一个负值，就具备了偶联的必要条件。

4. 反应速率和活化能

热力学第二定律只告诉了我们过程的方向和可行性，但是却没有回答过程会不会发生？反应速率和途径是怎样的？定律只涉及到过程从开始状态（反应物）到终末状态（产物）在能力学上是否行得通。例如葡萄糖的氧化反应：

$$\underset{\text{(葡萄糖)}}{C_6H_{12}O_6} + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O \qquad \Delta G = -2.87\times 10^3\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$
$$K = 10^{500}$$

式中的 K 为平衡常数，根据 ΔG 和 K 的数值我们就可以知道，这一反应一旦发生，就会自发地一直进行到底，并释放出大量自由能。然而实际上如果我们把葡萄糖放在一个密闭的容器内，内部保持为 1 个大气压，温度 25℃，结果这一反应进行得极其缓慢，几乎测不出来。可见，这一反应虽然单从能力学上来看是可以发生的，但是实际上，在这样的条件下，反应速率极其缓慢。此外，反应方程式也没有说明 CO_2 和 H_2O 的产生是经过一步反应，还是要涉及到许多中间产物（就像细胞内葡萄糖分解那样）的复杂代谢过程。可是我们研究细胞代谢，最关心的是途径和速率。前者是表明反应是怎样发生的；后者则表明代谢反应要保持一定的速率，以利于细胞保持正常生命活动。

要引起在热力学上可行的化学反应得以发生，还需要在反应发生之前，首先向系

统加入适量的能量，以引发反应自然进行下去。先行添加的这些能量称为活化能(energy of activation)。活化能即是指能引起一种反应进行所需的最低能量。在热力学上行得通的反应如果缺少活化能，它也不会自然发生(图3-28)。要促进反应的进行还有另一种方式，即降低反应发生对活化能的需求量。在化学反应中，降低活化能需求量最普遍的方式是，使反应物分子同另一种物质结合，形成对活化能需求量较少的活化复合物(activated complex)。这种同反应物结合，能降低反应对活化能需求量的物质，称为催化剂(catalysts)。因此，催化剂有降低反应活化能的作用(图3-29)，提高了反应速率。

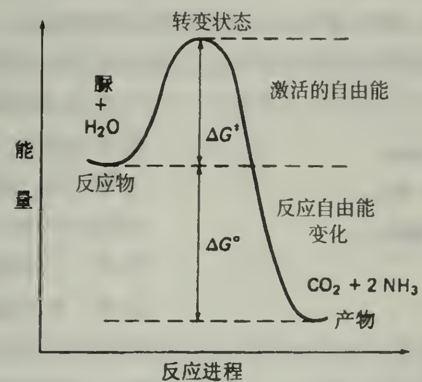


图3-28 一种放热反应的发生与活化能的关系示意图

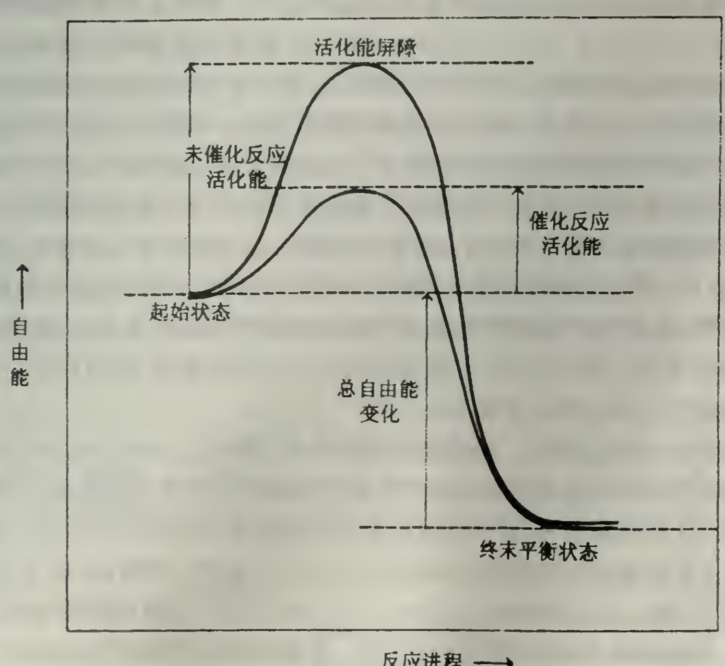


图3-29 添加催化剂对一种反应活化能的影响图解

二、酶——生命的催化剂

细胞中最主要的催化剂是酶。酶是蛋白质性的催化剂,其特点是既具有专一性催化活性,又具有可调性。细胞具有自我调节的自控能力与酶的作用密切相关。

(一)酶的作用特性

(1) 降低活化能屏障。酶的催化反应也与其他化学反应一样,都遵循相同的化学反应规律。例如尿素,不管是否有酶的存在,均可自然发生水解,产生相同的能量和最终产物。所不同的是,未经催化自然发生的反应,速率慢;如果有 H^+ 作为催化剂,则可提高反应速率;如果用酶来代替 H^+,则反应速率更要快得多。三种情形的差别仅在于反应速率,至于最终产物、能量支付、反应方向、反应平衡点都没有发生变化。三种情形差别的关键因素在于越过活化能屏障的易难程度不同(图 3-30)。

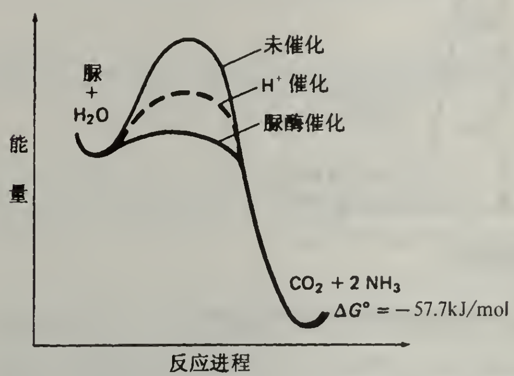


图 3-30　催化剂在降低活化能屏障中的作用图解

酶的主要作用是降低化学反应的活化能屏障,增加了反应物分子越过屏障和完成反应的概率。酶的作用机制是,在反应中酶与底物暂时结合,形成了酶-底物活化复合物。这种复合物对活化能的需求量低,因而在单位时间内复合物分子越过活化能屏障的数量就比单纯分子要多。反应完成后,酶分子迅即从暂时性的酶-底物复合物中解脱出来。因此少数酶分子循环使用可处理大量的底物分子。有的酶分子每秒钟可处理数百万个底物分子,速率十分惊人,这是生物反应高效率的具体反映。

(2)高度特异性。酶比无机催化物的优势在于它具有高度特异性。如无机催化物 H^+ 的特异性比较差,甚至根本无特异性;而酶对专一的底物有高度亲和力,致使其催化专一反应的效率特别高。细胞中每一种酶都有其专一的处理底物,因而在同一个细胞中或同一个细胞器中可同时进行多种反应。

(3)最适 pH 和最适温度。活细胞的内环境相当稳定,温度、酸度等生理条件都变化不大。细胞中酶的存在及其活动特性恰恰与细胞的这种微环境相适应。绝大多数酶发挥作用的 pH 范围都很窄,这一范围称为反应的最适 pH(optimum pH)。大部分酶的最适 pH 值是在细胞的生理范围内,即 6.0~7.0。但也有一些酶,对最适 pH 有特定的要求。如胃蛋白酶(pepsin)的最适 pH 为 1.5~2.0,因而可在胃酸酸度很强的环境中水解蛋白质;而精氨酸酶的最适 pH 值则为 9.5,这种酶往往是参加细胞外环境中的反应。

像其他化学反应一样,提高反应过程的温度有助于提高酶催化体系的反应速度。然而酶是蛋白质,当温度高出一定范围,就会有许多弱键被打开,从而发生变性(破坏

三级结构),导致失活。许多酶的失活温度为 45℃,绝大多数酶在 55℃以上都要发生变性。在高温条件下生活的生物,如嗜热细菌和生活在温泉中的蓝细菌,含有耐高温的酶,这些酶可在 70℃,甚至 70℃以上的环境中保持活性。生物工程中的 PCR 技术即是在找到了这种耐高温酶的条件下设计出来的(见第二章的 PCR 技术)。

(4)酶的辅因子。某些酶需要有一种非蛋白质性的辅因子(cofactor)结合才能具有活性。辅因子可以是一种复杂的有机分子,也可以是一种金属离子,或者二者兼有。完全的蛋白质 - 辅因子复合物称为全酶 (holoenzyme)。全酶去掉辅因子,剩下的蛋白质部分称为脱辅基酶蛋白(apoenzyme),辅因子本身则称为辅酶(coenzyme)。如果辅酶以共价键或其他紧密形式同脱辅基酶蛋白结合, 这种辅酶则称为辅基 (prothetic group)。例如细胞色素的血红素辅因子即是一种辅基,很难将其与脱辅基酶蛋白分离开来。在反应中,辅酶不发生永久性变化。辅酶的作用方式不同,辅酶 NAD 和辅基 FAD 是电子载体,另外一些辅酶在有关反应中可携载底物的特定原子或功能基。

(二)酶的可调性

1. 酶的自我调节

在反馈抑制中,反应系列的最终产物往往抑制催化形成初始产物的第一种酶。因而整个反应系列的反应速率决定于最终产物。一般多是反应系列的第一种酶受到抑制,这种酶称为调节酶 (regulatory enzyme)。起抑制作用的代谢产物则称为效应物(effector)或调节物(modulator)。变构酶即是一类调节酶 。变构酶分子大,结构复杂,它具有两种结合部位,除了有一个可同底物分子结合的活性部位外,还有一个可同调节物结合的部位。抑制物与调节酶所催化的底物在结构上不同。酶分子一旦和一种与真正底物形状不同的化合物结合,诱发酶分子的构象发生了改变,就要影响酶促反应的速率,这种现象称为变构现象(allostery)或变构效应(allosteric effect)。由于底物同酶的活性部位发生了专一性的楔合,因而变构调节必定是同酶的非催化部位结合。

变构调节物既可以起正作用,也可以起负作用,前者是增加酶的催化活性,后者是抑制酶的活性。例如,L - 苏氨酸经 5 个酶催化步骤合成了 L - 异亮氨酸。最终产物 L - 异亮氨酸的积累,导致对 L - 苏氨酸酶这种调节酶发生反馈抑制(图 3 - 31)。这种调节酶可被 L - 缬氨酸激活。在此系统中异亮氨酸为一种负变构调节物,而 L - 缬氨酸为苏

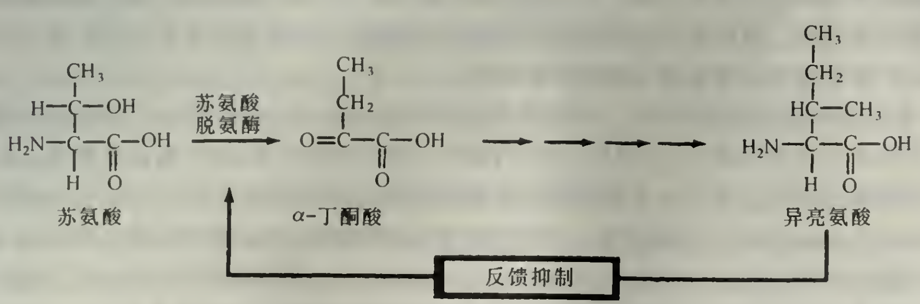


图 3 - 31 调节酶反馈抑制之一例

L - 苏氨酸经 5 个酶促反应步骤的最终产物为 L - 异亮氨酸,
L - 异亮氨酸为变构调节物,可对苏氨酸脱氨酶的活性发生反馈抑制

氨酸的正变构调节物。因此，一种调节物除了具有同底物结合的部位外，还有两个变构调节部位。

变构调节物的作用是引起酶的构象发生变化。所有的调节酶都是大蛋白质分子，有几个多肽亚基组成。有一种假说认为，调节物和一个亚基结合后，可导致酶的其他所有亚基发生构象变化。而另一种假说则认为，调节物只有同每一个亚基结合时，亚基才依次发生构象改变，未结合调节物的其他亚基的构象保持不变(图 3－32)。不管哪一种假说，都说明，调节物同酶反应时并不发生任何化学变化。

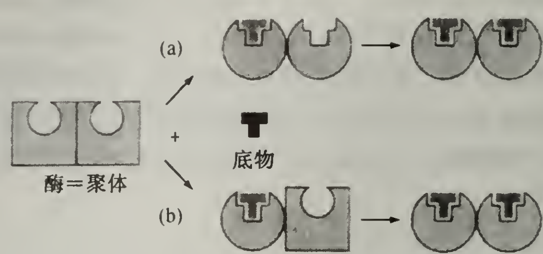


图 3－32　关于变构调节物同由两个亚基组成的酶相互作用机制的两种观点示意图（说明见正文）

在酶活性的变构调节体系中，最重要的一种是钙离子同广泛存在的可结合钙的蛋白质(如钙调素，calmodulin)相结合的变化。钙调素一旦同 Ca^{2+}结合，形成了 Ca^{2+}－钙调素复合物，此复合物即可同激酶或其他几种酶结合，使后者激活。被激活的激酶催化一个磷酸基由 ATP 转移到另一个分子，使分子发生磷酸化。每一种分子的磷酸化都由其专一的激酶来催化。例如，NAD 激酶催化如下的反应：

$$NAD + ATP \rightarrow NADP + ADP$$

蛋白质激酶则催化蛋白质磷酸化。此外，还有一些可结合钙的蛋白质，如骨骼肌中的肌钙蛋白 C(troponin C)(参见细胞骨架一章)。所有钙结合蛋白质均有组织和物种特异性。目前所知，几乎所有的真核细胞都含有钙调节蛋白。几十亿年的生物进化，把这种蛋白质保留下来，说明钙调节蛋白在复杂的细胞活动中起着极其重要的作用。在以后有关章节还要对这种调节途径进行适当的介绍。

调节物通过改变构象来调节酶的活性，从而调节细胞代谢活动。抑制调节物是改变酶的构型，而激活调节物是恢复酶的构型。调节物分子在同酶蛋白结合时，本身不发生化学变化。调节物一旦从它与酶结合形成的复合物上释放出来，则便重新返回细胞的代谢库中。由此可见，细胞通过同样的一组成分——酶和调节物，依靠“打开”或“关闭”酶的催化作用来调节细胞各种代谢。

在细胞中酶活性调节的另一条途径是协调性 (cooperativity)。酶与底物结合的类型大多数属于双曲线型的。这说明，当可与酶结合的底物浓度增加时，酶活性提高。还有一种结合类型是，很少一点底物即可使酶的活性达到同样高的水平，此为正协调性(positive cooperativity)类型的酶。当底物浓度达到饱和时，酶的活性也达不到最大值，这种酶的作用表现为负协调性 (negative cooperativity)。调节酶的活性具有这些特点，也可用蛋白质结合底物后分子发生构象的柔性变化来解释。在正调节类型中，底物同酶的一个亚基结合引起构象改变，从而使相邻的亚基容易结合底物。连锁反应使酶－底物可更有效地相互作用。因而，底物浓度即便是比非协调体系中的低得多，也可提

高酶的活性。在负协调情形中，底物同酶结合引起的蛋白质构象改变，使其不能再同其他底物结合了。于是，即便是细胞中底物浓度很高，酶活性水平仍比较低(图 3－33)。

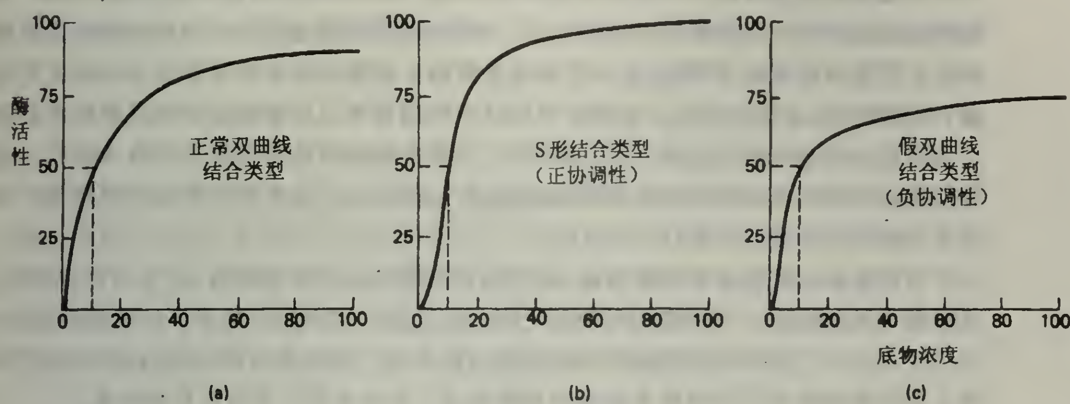


图 3－33　酶同底物结合的类型，说明酶是否进行自我调节示意图
(说明见正文)

细胞中各种酶对底物实际的敏感性不同，也可根据蛋白质协调性来调节酶活性的机制来说明。正协调性酶对底物浓度的微小波动很敏感，而负协调性酶对这种波动很不敏感。每一种协调性类型都是在特定的催化环境中具有一定的优点，特别是同细胞在一定时间的可用底物的量有关。

关于激活物和抑制物（正或负调节物）系统则不同，它们是对正和负调节性的补充。激活物使酶开放，而抑制物使酶关闭。协调性则是提高或降低对环境中调节物分子浓度变化的敏感性。激活物和抑制物在调节中起主要作用，而协调性则对催化系统增加了细调节。几乎所有这些调节都依赖于识别酶构象发生变化的能力，有的变化仅仅涉及到纳米以下的变化。

2. 酶的遗传调节

酶活性的调节是从酶分子水平上对细胞代谢的一种精密调控。但是细胞中酶合成的种类和数量则要受遗传调控，这可以说是对酶活性的一种粗调节。当然这两种调节均在基因水平上受到控制。为酶编码的基因决定了细胞合成酶的种类。如果某一物种缺乏为苏氨酸脱氨酶编码的基因，那么这种酶就不能合成。如果某基因发生突变，细胞就不能合成该基因编码的酶，或者是合成有缺陷的酶。这种有缺陷的酶失去了参加专一化学反应的能力。

酶的产量既受基因水平变化过程的控制，也要受转录水平上的调控，即通过控制 mRNA 的合成来调控酶蛋白的合成量。根据细胞中酶合成的情况，可将酶分为三类，即恒定酶（组成酶）(constitutive enzyme)、可诱导酶（indusible enzyme）和可阻遏酶 (repressible enzyme)。恒定酶的合成速率与同它作用的代谢物浓度无关，某些糖酵解酶即是恒定酶，不管介质中底物浓度如何，这种酶的产量不变，故名。而后两种酶的产量可因是否有底物的存在而迅速发生变化。可诱导酶是在引进作用底物时才进行合成。

例如，细菌细胞中的半乳糖苷酶即是一个典型的例子，当在培养基中用乳糖或 β－半乳糖代替葡萄糖作为营养源时，细胞便开始合成 β－半乳糖苷酶。当把培养基中的乳糖、β－半乳糖苷除去后，β－半乳糖苷的合成便立即停止。

可阻遏酶的合成恰与上述情况相反，当反应产物存在时，便停止酶合成。例如，色氨酸是蛋白质中一种含量很少的氨基酸，细胞对它的需要量很少，当色氨酸的合成量超过了蛋白质合成的需要时，便不再合成色氨酸。这是因为参与反应途径的酶受到阻遏，于是便停止合成新的酶。这种由于最终产物过量把反应系统关闭的过程称为最终产物阻遏(end product repression)。同时，已合成的酶也受到抑制而不再具有活性。这种抑制方式称为酶活性的反馈抑制 (feedback inhibition)，发生抑制作用的抑制剂即是该反应途径中的最终产物(图 3－34)。

可诱导酶一般是催化分解反应，这种酶在细胞中的存在量极微，可是当有底物时，其浓度可迅速提高。可阻遏酶是催化生物合成反应，它在生长细胞中的含量和活性，与生物合成中正在产生和已被利用的底物的量有关。如果酶是可诱导的或可阻遏的，那么其对底物的反应分别称为酶诱导和酶阻遏 ，或称为酶合成的诱导和阻遏。

(三)同工酶

一种酶的多分子形式，称为同工酶 (isozyme)。同一组亚基，可以不同的比例排列组合成一种酶的各种同工酶。同工酶催化同一种反应，但反应的速率不同，通过测定活性差别可以将它们彼此区分开来。

研究最清楚的同工酶是大鼠组织中的乳酸脱氢酶。它有 5 种同工酶，每一种都是由 4 个多肽链亚基排列组合成的四聚体结构，分子量为 134 000。实际上，酶分子中只有两种多肽链，分子量均为 33 500，两种多肽链分别称为 M 链（亦称 A 链）和 H 链(亦称 B 链)。酶分子 4 个亚基是 M 链和 H 链以不同的组合比例配合而成，配合比例不同形成不同的同工酶。大多数细胞中都有乳酸脱氢酶的 5 种同工酶，即 M_4、M_3H、M_2H_2、MH_3、和 H_4(图 3－35)，但

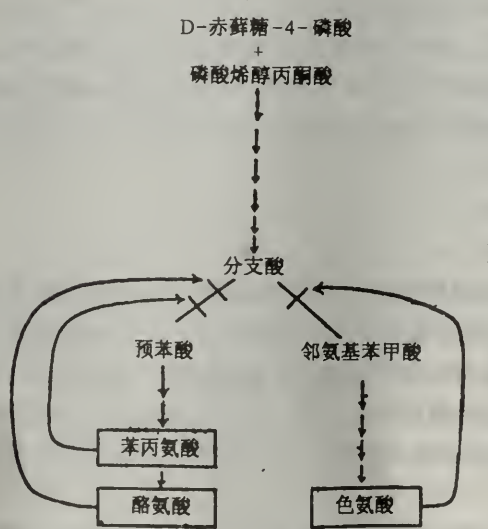


图 3－34　在色氨酸合成途径中，参加早期步骤的酶，其合成受到最终产物的阻遏示意图

可阻遏酶往往是在一个生物合成系统中的分支点之后发挥作用。分支酸形成之后，可阻遏酶通过分支途径合成了 3 种不同的氨基酸最终产物、最终产物的量对可阻遏酶的合成具有调节作用

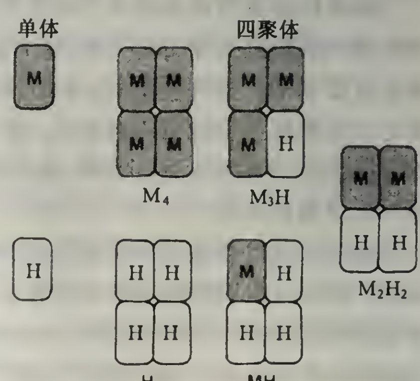


图 3－35　乳酸脱氢酶是由 M 和 H 多肽链亚基组成的四聚体，示 5 种同工酶四聚体的组合方式

各种同工酶在不同细胞中的含量比例不一定相同。代称字母 M 和 H 后面的数字代表一种同工酶所含亚基数。实际上，肌肉中含的同工酶主要为 M_4，而心脏组织中主要为 H_4。故两种肽链是以其所在的主要组织分别命名为 M(muscle)亚基和 H(heart)亚基。

M 亚基和 H 亚基是由两种不同的基因分别指导合成的，如果这两种基因活跃状态相同，那么 M 和 H 两种亚基可按等比例产生。但是如果两种基因的活跃程度不同，两种亚基的合成量就不一样。细胞中两种亚基的结合是随机的，因而各种同工酶的产量与两种亚基的含量相对应。在骨骼肌的白肌中，M_4 和 M_3H 的含量高；而在需氧呼吸活动高的心肌中，MH_3 和 H_4 同工酶含量高，原因即在于不同基因的活跃程度不同。

同工酶的合成在个体发育中具有一定的遗传程序。随着细胞分化程度和细胞、组织的发育阶段不同，各种同工酶的反应也不一样。通过同工酶来调节细胞代谢，有一定的优越性，扩大了细胞调控代谢的范围，使酶在细胞调控中的作用远远超过了简单的化学反应水平。同工酶是有机体随条件变化而调节代谢的另一种方式。当一种同工酶受到抑制时，另一种同工酶仍可起作用，从而保证了代谢的正常进行。

(四)多酶体系

细胞作为生命最基本的单位，其突出的特征是结构和代谢活动的分区化(compartmentalization)，细胞中各种代谢活动都有专一的定位。在这种分区化的代谢活动中，酶起着关键性的作用。一个细胞中所拥有的酶种类十分惊人，大约有几千种之多，有人把细胞比喻成是一个“酶袋”。然而这一比喻并不恰当，因为它不能突显出酶在细胞这一立体空间中分布有序性和活动的可控性。前面我们对酶的介绍侧重于单个酶分子的性质和作用特点。实际上，细胞中以单个酶分子独立进行活动的情况极少，而绝大多数是以集体协同活动的方式来完成一个系统代谢过程。

在一多步反应系统中，催化相关反应的酶系列链称为多酶体系（multienzyme system)。多酶体系催化作用的重要特点是，排列有序，前一反应的产物即是后一反应的底物。根据分子结构的复杂程度，多酶体系可分为三级水平。

1. 分散型多酶体系

它是多酶体系中最简单的一类。在此酶系中各种酶分子间没有结构关系，各种酶单独悬浮在细胞质溶质或细胞器基质中。在反应过程中，底物小分子在酶分子间迅速扩散，从而与酶分子相互作用。例如，参加糖酵解过程各个步骤的各种酶，即是悬浮在细胞质溶质之中进行催化活动的。糖酵解过程是将葡萄糖经 5 个酶促步骤降解为 2 个丙酮酸分子，并产生 2 个 ATP 分子。

2. 集团化多酶体系

细胞代谢活动的高速、高效主要依赖于酶的催化效率高。在分散型的多酶体系中，要求反应的中间产物要在酶分子之间快速扩散，这样才能保持酶与底物分子的碰撞概率。如果反应受到底物扩散速率的限制——扩散限制(diffusion limited)，那么只有提高酶和底物的浓度才能提高反应速率。真核细胞中依靠内膜系统而分区化，各种反应在一定区域中进行，使反应物的浓度得以提高(可比不分区提高 10 倍)，从而也就提高了反应速率。然而，细胞还有另外一种方式来提高反应速率，即使参与反应系列的各种

酶集合起来，构成大的蛋白质集合体——多酶复合物（multienzyme complex）。参与集合体的酶单独存在时，不能起作用。在系列反应的整个过程中，中间产物不离开酶群，直到反应最后形成的最终产物才被释放出来。例如，丙酮酸脱氢酶即是组成多酶复合物起作用的。丙酮酸转化为乙酰 CoA 要经过 3 个酶促步骤，这三个步骤都是在同一个大的多酶复合物上完成的（图 3 – 36）。

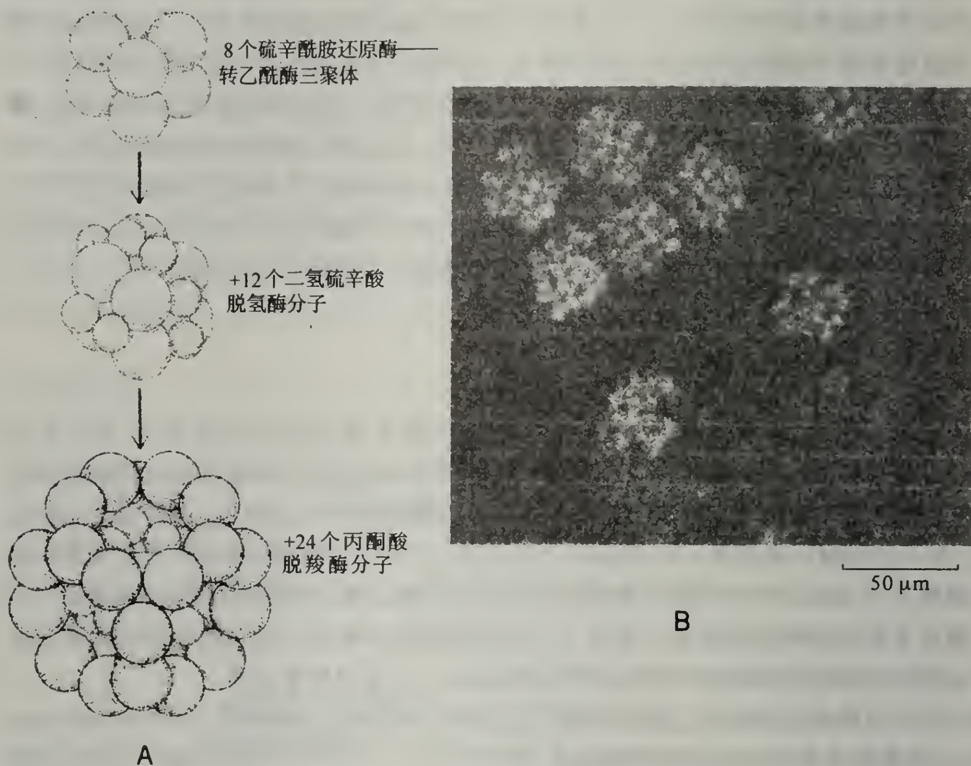


图 3 – 36　丙酮酸脱氢酶复合物的结构模型

复合物是由 8 个硫辛酰胺还原酶——转乙酰基酶三体，12 个二氢硫辛酸脱氢酶分子和 12 个丙酮酸脱羧酶分子所组成。A. 复合物图解；B. 复合物负染色电镜图

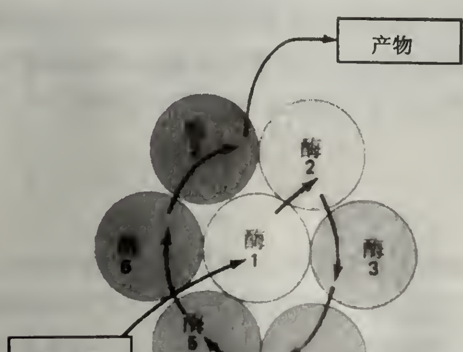


图 3 – 37　脂肪酸合成酶结构示意图

由 $E_1 \sim E_7$ 代表反应系列中催化不同步骤的 7 种酶

又如，脂肪酸合成酶复合物是一个更大的多酶复合物，它要催化合成两碳前体物合成脂肪酸，催化的反应系列更长。此复合物是由 7 种酶（$E_1 \sim E_7$）构成（图 3 – 37）。

3. 结构化多酶体系

有的具有高度结构的多酶体系和一定的细胞结构，特别是膜结构，结合在一起，形成了最为高级的多酶体系。例如，同氧化磷酸化有关的酶系即构成了膜的整体部分。在原核生物中，这些酶是质膜的

整体结构成分；在真核生物中，它们是线粒体内膜的整体结构的组成部分。这类多酶体系只有在保持膜结构的完整性时，才具有催化活性。因此，用常规的生物化学方法来研究此类酶的结构和催化机制，就很困难。

三、细胞的 RNA 催化剂

(一)Ribozyme 的发现

前面所介绍的酶是生物所特有的催化剂，它们都是蛋白质性的，因而“酶是蛋白质”这一概念已形成了共识。但是，酶是否是生物中唯一的催化剂呢？到了 80 年代，有的学者(Cech, T. 1982)在四膜虫(*Tetrahymena*)中发现，rRNA 的前体物能在没有任何蛋白质参与下进行自我加工，产生成熟的 rRNA 产物。这种加工方式称为自我剪接(self splicing)。只要条件具备，四膜虫前体 rRNA 在体外也能在没有蛋白质的情况下进行自我剪接。后来又发现，这种剪下来的 RNA 内含子序列像酶一样，也具有催化活性。此 RNA 序列长约 400 个核苷酸，可褶叠成表面复杂的结构。它也能与另一 RNA 分子结合，将其在一定位点切割开(图 3-38)。因而学者们将这种具有催化活性的 RNA 序列称为 Ribozyme。

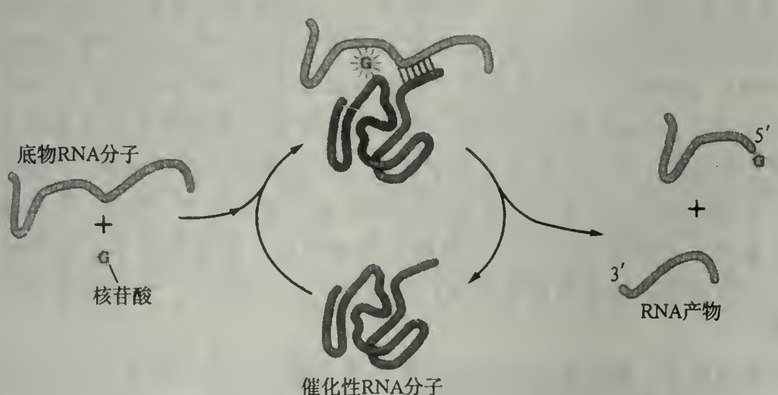


图 3-38　四膜虫 RNA 分子的自我剪接和内含子催化活性图解

(二)Ribozyme 是酶吗?

后来陆续发现，具有催化活性的 RNA 不只限于四膜虫中存在，在真菌和细菌中亦有所发现。此外，近几年来又发现了其他几种 RNA 具有催化活性。例如，有一种 RNA-蛋白质复合物，能将前体 tRNA 在一定位点切割开，变成成熟的 tRNA。实验证明，此复合物中的蛋白质对前体 tRNA 有识别能力，而真正具有催化切割作用的是复合物中的 RNA。一个更典型的例子是核糖体。核糖体是由几种 rRNA 和多种蛋白质构成的极为复杂的复合物，其作用是通过催化在氨酰基氨基酸间建立肽键，合成多肽链。过去一直认为催化肽链合成的是核糖体中蛋白质的作用。现在发现，具有肽基转移酶活性和催化形成肽键的成分是大的 RNA，而不是蛋白质，核糖体中的蛋白质只起

结构支持作用。由此可见,在生物界中,Ribozyme 的存在并非个别现象。

在国内关于 Ribozyme 一词的中文定名，迄今尚未取得一致的定论。有的称为核酶,有的称为核糖酶,甚至有的主张另造一个汉字来代表具有催化活性的核糖核酸。Ribozyme 中文定名的困难在于,很难与酶的传统概念(酶是蛋白质)和作用性质(底物+催化反应性质)协调起来。随着学科的发展,观念也要更新,不能把思路禁锢在已有的观念之中。酶是蛋白质,但不是所有的蛋白质都是酶;酶是催化剂,但不是一切催化剂都是酶。如果这一逻辑推理能为大家所公认的话，那么困难就好解决了。既然 Ribozyme 和酶都是生物催化剂,但是化学性质不同,我们为什么不可以把 Ribozyme 列为单独的一类生物催化剂呢?就把它称为 RNA(性)催化剂,以有别于酶这种蛋白质性催化剂。这样定名就用不着去动摇酶的传统概念，也不用使 Ribozyme 的中文定名非缀“酶”字不可。

四、蛋白质组学的诞生

随着对基因研究的不断深入和人类基因组计划的实施,基因组学 (genomics) 便应运而生了。基因组学是从整体水平上研究所有遗传信息的构成和转移对细胞和生物体生命活动的影响。然而生命活动的主要体现者是蛋白质,人类基因组中大约有 10 万个基因,通常进行表达约有 15%,也就是说,一个细胞中含有的蛋白质约有 15 000 种之多。细胞中含有的全部蛋白质,或者说由基因表达所产生的全部蛋白质称为蛋白质组(proteome)。proteome 一词是由澳大利亚学者 Wilkins 和 Williams 于 1994 年提出来的，这是一个与 genome 相对应的词。蛋白质组中蛋白质的组合变化概率几乎是无穷的。此外,蛋白质作为一类生物大分子还有它自己独特的变化规律,它除了在基因水平上有其可调性以外,还有分子本身结构和功能的调节变化。因此,对细胞内蛋白质组的研究是揭示生命活动规律不可逾越的发展阶段。从整体水平上研究细胞内蛋白质组成及其活动规律的学科被称为蛋白质组学 (proteomics)。它是后基因组学的一门新兴学科。

基因通过转录、翻译所产生的蛋白质还要在翻译后进行修饰加工、结构变化、转运、空间定位分布、与其他蛋白质分子以及与其他生物分子的相互作用等变化。这些变化单从基因水平上是无法解释的。一般说来,由于翻译后的加工,蛋白质组中的蛋白质数目要大于基因组中的基因数目。蛋白质在细胞中的种类、数量和结构并不是固定不变的,它要随生物的发育和分化过程发生不断的变化。因而,对蛋白质组的研究不能只从单个蛋白质分子去考虑,而要从蛋白质组整体的四维系统(空间结构+动态变化)的角度去研究。

在特定时间,特定环境条件(包括人为实验条件)下,活跃形成的蛋白质,称为功能蛋白质组(functional proteome)。功能蛋白质组是总蛋白质组的一部分,研究这部分蛋白质组变化规律的学科,称为功能蛋白质组学(functional proteomics)。

可以预见,蛋白质组学的研究难度要比基因组学的大得多。然而,人类在揭示生命的奥秘的过程中,蛋白质组学的创立无疑是跃上了一个新台阶,它预示了生物学研究中一个新时代的开始。

细胞作为生命载体的一个基本单位,在研究细胞的生命活动时除了要从基因表达的角度进行分析外,还必须从更深的层次研究基因组与蛋白质组的相互关系问题。蛋

白质对基因活动具有调节作用。在发育生物学中,长期以来大家所关注的核质关系问题,从本质上讲,就是基因组与蛋白质组的相互作用关系问题,孤立地研究基因组并不能解释生命活动的全部奥秘。那种认为“有了物种的基因组,就等于有了生物物种”的想法,显然是把复杂的生命现象考虑得过于简单了。至于企图根据某物种的基因组去创立或复苏某物种的打算更是不可思议的。

蛋白质组学还是刚刚起步的一门新兴学科, 是生物学中的一个新的生长点, 它的生命力和对生物学的影响要在今后的发展中显现出来。

生命是活细胞特有的属性,细胞生物学的研究始终应注意到“活”字上,没有活,细胞生物学也就失去了存在的意义。我们在学习以下各章时, 首先要树立起这一思路,要把“活”同本章内容以及本课程所介绍的全部内容联系起来。

通过对本章的学习, 使我们对细胞这个生命结构的实体单位有了概括的了解, 为学习后续内容打下了基础。同时我们也可理解到,细胞之所以表现出生命现象是有一定的物质结构基础的。细胞中既有无机物,也有有机物,但在生命活动中,有机物起着主导作用,其中特别是蛋白质、核酸、碳水化合物和脂类对细胞的结构和活动具有决定意义。它们不仅是构成细胞的重要分子成分, 而且细胞的有序结构和功能活动, 恰恰与这些物质分子的特有属性密切相关。因此我们在研究细胞的生命活动时,不可不和分子的属性联系起来。但是需要强调的是,我们只有从细胞活动的角度来认识分子属性,分子才具有生命性质。分子离开了细胞,则就失去了生命的意义。例如,生物膜的结构和特性与脂类和蛋白质分子的属性密切相关; 细胞许多结构的自我装配能力, 显然同蛋白质分子的线性一级结构所携带的信息, 以及分子间的相互作用力分不开; 而核酸分子以其核苷酸四位编码而成为遗传信息的最佳携带者和传递者。

新陈代谢是生物体的基本特征。新陈代谢的生物化学反应过程实质上反映了生物体的能量代谢和对能量的有效利用。生物能量代谢同样符合于热力学定律。然而生物体具有本身所特有的能量利用方式, 从而使能量转化特别精密和有效。细胞中把ATP 作为内部能量转化和传递的中介体,这就是错综复杂的各种代谢活动具有了统一性和灵活性, 便于细胞各种活动的协调和控制。生物体是自然界有序结构的最高形式,细胞恰是利用外界能量建设和装配了自我。

自我调控是细胞的又一基本特征。这一机制是由细胞的遗传活动和酶分子作用共同执行的。酶是生物体内的蛋白质性催化剂, 它既具有一般催化剂的基本特性, 即可降低催化反应的活化能屏障, 又具有更强的特异性和可调性。然而, 酶又不同于无机催化剂, 恰恰在于它不仅受遗传控制, 而且分子本身对自己的活性尚具有自我调节能力。酶分子可通过构象变化来调节自身的活性。例如:酶分子同底物接触后,可发生构象变化,产生诱导楔合现象;由多个亚基构成的别构酶,一旦其一个亚基同第一个底物分子结合,则可引起其他各亚基发生构象变化,增强了另外亚基同底物的亲和力;别构酶的别构部位同效应物(激活物或抑制物)结合后,引起活性部位的构象变化,从而使酶同底物的亲和力增强或减弱。酶的这些性质对调节细胞代谢十分重要。多酶体系是酶作用的高级形式, 它是由多个不同酶分子组合而成的复合物, 有序地催化一条生化反应链。这种作用方式极为有效, 从底物到最终产物的形成, 整个多步反应过程都是在同一个复合物中完成。有些多酶体系则构成了生物膜的组成部分,形成了酶催化活动结构的最高级形式。

酶活性调节的遗传调节是一种粗调节, 而酶分子本身的构象变化是一种细调节,

两种调节途径协同配合,共同有效地调节着细胞的各种代谢活动(图 3-39)。

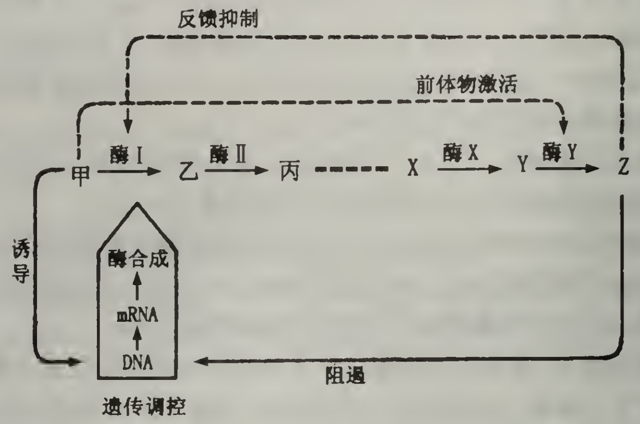


图 3-39 酶活性在遗传水平和催化水平上调节机制示意图

图中甲为第一代谢物,Z 为最终产物。在反馈抑制中,Z 为第一种酶的变构抑制物;在前体物激活中,甲是最后一种酶的变构激活物。在遗传控制中,底物甲诱导能使催化它分解的酶进行合成

细胞是生命的基本结构单位,它的结构极为严密。一定的结构都具有一定的化学组成。生命活动即是在这种结构严密的立体结构实体中进行的,生命活动离不开化学物质反应,而物质反应离不开能量变化。如果说,生命是物质存在的最高形式,那么也可以说生命是能量存在的最高形式。本章花费了较多的笔墨介绍了细胞的化学成分和结构,目的在于,在生命现象与物质结构之间建立思维联系。细胞的"自我装配、自我调控和自我复制"这些微妙的生命现象不是不可理解的。

提　　要

细胞是构成生物体最基本的结构和功能单位。它是由膜围成的能进行独立繁殖的最小原生质团。构成细胞最基本的要素是:①基因组;②质膜;②完整的代谢机构。这三项要素缺一不可,缺一就称不上为细胞。支原体是具备这三项要素的最小细胞。病毒由于缺少完整的代谢机构,有的甚至无膜包围,故不属细胞。

生物界中的细胞可分为真核细胞和原核细胞两大类。原核细胞最主要的结构特点是缺少由膜包围的核,其遗传物质存在的区域称为拟核,拟核与细胞质之间无明确的分界。此外,在染色体、细胞分裂方式、营养方式、细胞质结构和鞭毛结构诸方面,原核细胞与真核细胞都有明显的差别。原核细胞要比真核细胞结构简单,没有内膜系统和细胞骨架。由原核细胞构成的生物称为原核生物。在生物分类中,原核生物被列为原核生物界(monera),它包括的门类很少,只有细菌和蓝细菌两类。生物界中除原核生物外,其他均为真核生物。真核生物分为植物界和动物界。植物细胞的特征是含有叶绿体和具有细胞壁。脱壁的植物细胞称为原生质体(protoplasts)。真核细胞内部由核被膜把细胞分隔成细胞核和细胞质两大部分。真核细胞的内膜系统把细胞内部分隔成若干区域,分区化是细胞进化高等的标志。细胞核中含有染色体,染色体是遗传物质的载体,染色体的数目、形态和带型具有物种的特征。一个细胞中的染色体,按大小、形状和带型排列而成的序列图像称为核型(karyotype)或染色体组型。

病毒不是细胞，但它的活动周期与细胞有着密切的关系。病毒不能独立繁殖，它只有进入细胞后，依赖细胞的机构来制造装配自身所需要的构件成分。病毒和细胞都使用共同的遗传密码。病毒有 DNA 病毒和 RNA 病毒之分。病毒又可按照所寄生的宿主不同，而分为动物病毒、植物病毒和细菌病毒（噬菌体）。

在植物中有的感染物只是小的 RNA，无外壳，但却具有病毒的活动规律，这类感染物称为类病毒。

近几年来发现的蛋白质感染因子，无论在化学性质上，还是活动规律上均不同于病毒和类病毒。蛋白质感染因子不含核酸，亦无一定的形态结构，它不应属于病毒。

本书对病毒和类病毒做适当的介绍，有助于理解细胞的某些生理和遗传机制。病毒也是分子生物学和遗传工程研究中的有用材料。

细胞是由无机物、有机物和水所组成，其中水占了绝大部分，约为细胞物质总量的 75% ~ 85%。有机物主要包括蛋白质、核酸、碳水化合物和脂类，除脂类外，其他三类多以大分子聚合物的形式存在。细胞是一个高度有序的立体空间结构，细胞的这一结构特征与组成细胞的有机化合物的物理化学属性分不开。生命现象是细胞活动的表现。

蛋白质是细胞结构和功能活动的主要成分。蛋白质的重要性在于，细胞的各种结构都离不开蛋白质，而且它在细胞的各种活动中起着关键作用，特别有许多蛋白质具有催化活性，这对细胞生命活动的调控至关重要。核酸是生物遗传信息的载体和传递者，它以 4 种核苷酸编码的方式储存遗传信息，并通过转录和翻译过程将遗传信息表达出来。DNA 中核苷酸编码序列的遗传单位称为基因。核 DNA 是细胞活动的控制中心；而 DNA 的活动要受蛋白质的调节。

细胞的代谢实质上是能量的代谢，细胞是与外界不断交换物质和能量的开放体系。细胞与无机物结构的本质差别是，它能主动利用外界的物质和能量建造和更新自身。细胞中能高速、高效地进行生化反应，与酶的存在分不开。酶是生物体中最主要的催化剂，酶的化学成分是蛋白质。具有催化活性的 RNA 的发现，是生物中的另一类催化剂，它的化学性质和作用机制不同于酶，故可称为 RNA 催化剂。

细胞不是单纯的有机物和无机物的堆积，而是极其有序的立体结构实体。它的生命活动是建立在基因组与蛋白质组相互作用的基础上的。

复习思考题

1. 解释下列名词：细胞、细胞质、原生质、原生质体、细胞器、细胞质溶质（胞质溶胶）、病毒、类病毒和蛋白质感染因子。
2. 说明原核细胞与真核细胞的主要差别。
3. 分析生命、生命活动、生物、有机体和细胞几个概念的相互关系。
4. 对细胞的下列几个定义进行分析比较：
   (1)一切生物的结构和功能的基本单位；
   (2)有膜包围的能独立进行繁殖的最小原生质团；
   (3)生命活动的基本单位。
5. 为什么说病毒不是细胞？蛋白质感染子是病毒吗？
6. 酶是细胞中的主要催化剂，与无机催化剂相比它有哪些优越性？
7. 细胞活动自我调控的物质基础是什么？
8. RNA 催化剂的发现有何重大意义？

9. 各类生物大分子各有何主要属性？这些属性在分子构成细胞中各起何作用？

10. 如何理解 E. B. Wilson 所说的：一切生物学问题的答案最终要到细胞中去寻找。

11. 何谓蛋白质组学？你如何评价它的发展前景？

主要参考文献

赟昆龙，张永振，1998. 关于 Prion 汉译名的建议．生命的化学，18(2)：51

韩贻仁，杨晓梅，1999. Prion 是病毒吗？兼谈 Ribozyme 的中文定名问题．生物化学与生物物理进展，26(6)：616～617

胡志远，贺福初，1999. 蛋白质组研究进展．生物化学与生物物理进展，26(3)：202～205

胡红雨，许根俊，1999. 蛋白质的结构转换．生物化学与生物物理进展，26(1)：9～12

李伯良，1998. 功能蛋白质组学．生命的化学，18(6)：1～4

张树政，1999. 糖生物学：生命科学中的前沿。生命的化学、19(3)：103～106

朱国萍，徐　冲，1998. 朊病毒蛋白的分子生物学研究进展．生命的化学，18(4)：6～8

Alberts, B. *et al.*, 1994., Molecular Biology of the Cell, 3rd ed., Garland Publishing, Inc., New York & London. 3～128

Alberts, B. *et al.*, 1998. Essential Cell Biology, An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc. New York & London. 1～209

Alberts, B., 1999. The Cell as a Collection of Protein Machines: Preparing the Next Generation of Molecular Biologists. Cell, 92(3): 291～294

Avers, C. J., 1986. Molecular Cell Biology. Addison－Wesley Publishing Company, Boston, 31～99.

Collinge, J. *et al.*, 1994. The Prion Principally of a Post-translationally Modified Form of a Host－Encoded Glycoprotein(PrP^c), Designated PrP^{sc}. Nature, 370(6487): 295～297

Kocisko, D. A. *et al.*, 1994. Cell-Free Formation of Protease Resistant Prion Protein. Nature, 370 (6489): 471～474.

Koegl, M., Schlenker, S., Mayer, T. U. *et al.*, 1999. A Novel Ubiquitination Factor, E$_4$, Is Involved in Multiubi quitin Chain Assembly. Cell, 96(5): 635～644

Precott, D. M., 1988. Cells. Jones and Bartlett Publishers, Boston. 48～103

Wolpert, L., 1998. Principles of Development. Current Biology Ltd. & Oxford University Press, London & New York. 1～22.

Wylie, C., 1999. Germ Cells. Cell, 96(2): 166～174

Zhang, L., Zhou, W., Velculescu, V. E. *et al.*, 1997. Gene Expression Profiles in Normal and Cancer Cells. Science, 276(5316): 1268～1272

质膜和细胞表面

构成细胞的活物质总称为原生质。细胞的外围包有一层由脂双层分子和蛋白质构成的单位膜称为质膜(plasma membrane; plasmalemma),亦称为细胞膜(cell membrane)。为了把这层膜与其他膜有所区别起见,现在一般均把细胞外围的这层膜特称为质膜。

质膜不仅是细胞把其内部与周围环境分开的边界,更重要的是,它是细胞与周围环境和细胞与细胞间进行物质交换和信息传递的重要通道。质膜是细胞的一道可调控的动态屏障,对物质的进出细胞运输有调控作用。高等生物是由多细胞所构成,相邻细胞间有着密切的相互关系,彼此间要进行物质和信息交流,质膜恰处于这种关系的最前缘。因此质膜是细胞通向外界的门户。

质膜是细胞的重要结构成分,质膜和细胞内各种膜在结构、化学组成和活动属性等方面有一定的共性,故总称为生物膜(biomembrane; biological membrane)。生物膜是细胞进行生命活动的重要结构基础,能量转换、蛋白质合成、物质运输、信息传递、细胞运动等活动都与膜的作用有着密切的关系。随着对膜的研究不断深入,从而形成了一门新学科——膜生物学。本章的重点是介绍质膜的结构和功能,然而各种膜的结构和属性有许多共同之处,通过对质膜的了解,触类旁通,即可对生物膜有一个基本的认识。

许多真核细胞,质膜的外侧尚有向外伸出的寡糖链,在质膜表面由这些寡糖链形成的一层结构称为糖萼(glycocalyx)或细胞外被(cell coat),通常所说的细胞表面即是指质膜外表面的这层物质。

第一节　质膜的分子结构

一、质膜的化学性质

经历了很长的一段历史过程,人们才认识到细胞有质膜的存在。最早对质膜进行研究的是 E. Overton,他于 1895 年研究了质膜的通透性,用的材料是植物细胞。他发现,凡是溶于脂肪的物质也很容易穿过膜,反之不溶于脂肪的物质则不容易穿过膜。后来,1897 年 Crijns 和 Hedin 用红细胞做了类似的实验,亦证明分子穿膜的通透性与其在脂类中的溶解度有关。于是,E. Overton 主张,细胞膜是由一层脂类物质所组成,从而初步明确了细胞膜的化学性质(图 4－1)。

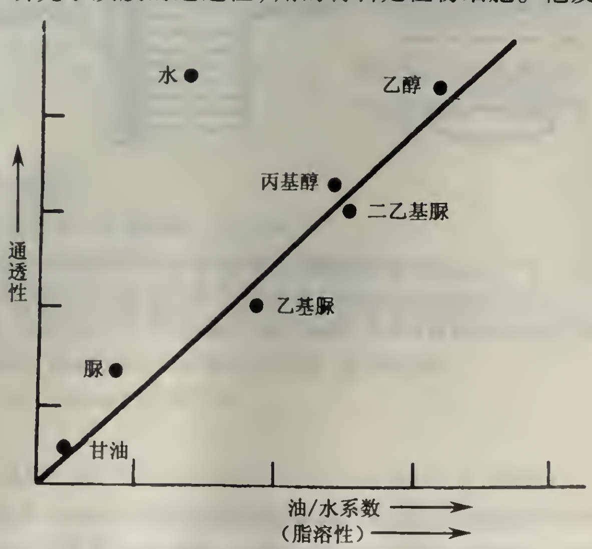


图 4－1　化学物质穿膜的扩散速度与其脂溶性成正比(水例外)

1917 年 Langmüir 设计了脂类单分子膜技术,亦称为膜平衡(film balance)技术,此技术至今仍然是研究人工膜的重要技

术。这种技术的基本做法是，把溶有脂类物质的有机溶剂倾倒到盛有水的浅槽中，脂类分子旋即在水面上铺展开，而溶剂随即挥发掉。脂类分子的极性基(—COOH)被吸附到水分子上，而非极性的碳氢链则竖立在水面以上。这时脂分子的分布比较散乱，然后用一板条在水槽中向一方向推挤，减小水表面的面积，使脂分子被挤成排列紧密的单层。在水面上浮有一灵敏的平衡装置，可反映出脂分子所占的总面积。根据所投入的脂分子数，即可计算出单个脂分子所占的面积。例如一个硬脂酸分子所占的面积约为 0.2nm²(图 4-2)。用这种方法也可测定单脂分子层的厚度，硬脂酸的厚度约为 2.5nm。厚度的大小决定于分子碳氢链中的碳原子数。当把玻片插入浮有单层脂分子的水中时，玻片表面可吸附上单层脂分子膜。如果将玻片反复插入、拉出，则可吸附上双分子层或多分子层。

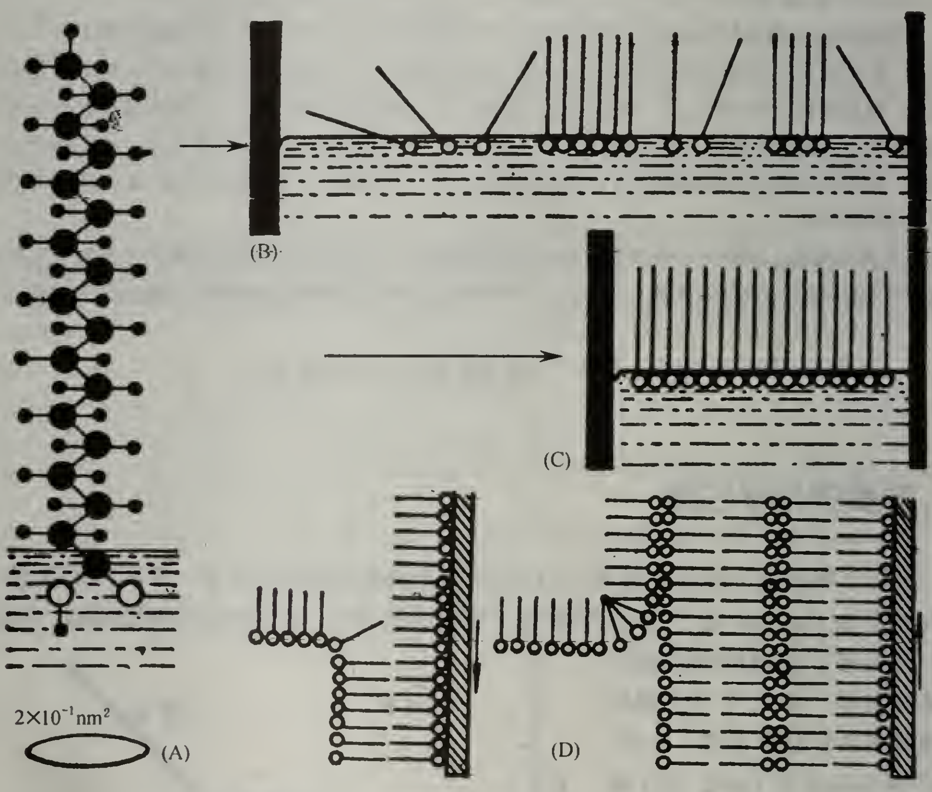


图 4-2　制作脂分子单层技术图解

(A)一个硬脂酸分子浮在水面上时的示意图；(B)脂分子在水面上散乱分布；
(C)推挤后，脂分子在水面上整齐地排列成单层，极性头(圆圈)插在水中，碳氢链(直线)伸在水面上方；
(D)将涂有硬脂酸钡单分子层的玻片插入表面浮有单分子层的水中，则又铺展上了第二层分子，双层脂分子以非极性尾相对。将玻片反复插几次，即可在表面上形成多层硬脂酸钡双分子层
(转引自 De Robertis 1980)

Gorter 和 Grendel(1925) 利用 Langmüir 设计的脂单分子膜技术测定了细胞膜中脂分子单层的总面积，所获得的结果支持了 Overton 的推论。他们用的材料是红细胞的细胞膜。成熟红细胞内部无膜，溶血后只剩下了一层细胞膜外壳，称之为血影(ghost)。他

们把血影的脂类物质抽提出来，在水面上铺成单分子层，脂分子聚拢后的面积恰等于原来红细胞表面积的两倍。由此他们主张，细胞膜是由双层脂分子组成的。实际上，胆碱酸甘油酯与水作用时有自然形成脂双分子片层的倾向，脂分子的亲水端朝向水，而疏水尾彼此相对，这样形成的脂双分子层与质膜的脂双分子结构极为相似（图 4－3）。

后来，有的学者（Collander 和 Barlund 1933）发现，虽然质膜对某些物质的通透性与该物质的脂溶性有关，但有一些小分子，如水、甲醇等，其穿入细胞的能力大于根据其脂溶性所应有的穿透能力。因此推想，细胞膜脂双层分子中一定还有一些贯穿脂双层的小孔，便于亲水性分子的通过（图 4－4）。

由上面的介绍，我们可以了解早期对细胞膜的认识过程，有助于我们树立正确的认识问题和解决问题的思想方法。

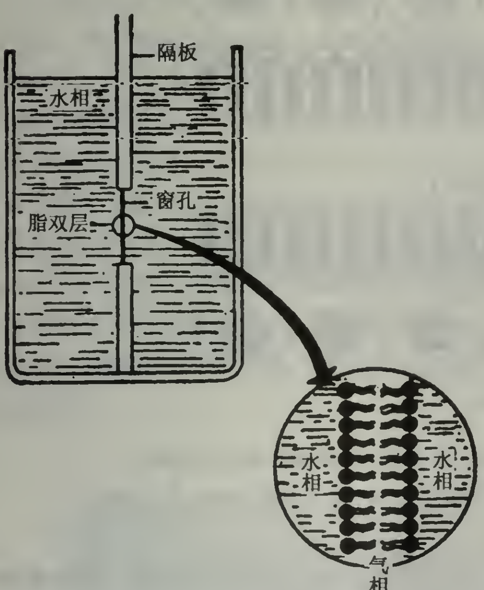


图 4－3　磷脂同水作用时可自发形成脂双分子层
孔壁蛋白质分子用毛笔将脂类物质涂在一隔板的窗孔上，当把隔板插入水中时，脂类物质同水相互作用而变薄，形成了脂双分子层，厚度约为 10nm（自 Avers, C. J. 1981）

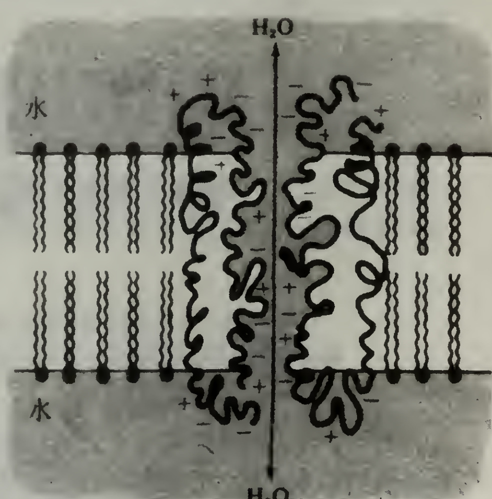


图 4－4　细胞膜上有亲水性小孔
小孔中的亲水性残基有利于水穿膜扩散

二、几种有代表性的质膜模型

以上所介绍的这些实验虽然是初步的，但是却为对质膜的深入研究打下了基础。最早的质膜模型即是在这一基础上提出来的。过去提出的质膜模型有几十种之多，在这里只介绍几种有代表性的。

（一）双分子片层模型

Overton 关于细胞膜是由脂双分子层组成的主张无疑是对质膜认识的重大突破，然而这一认识对后来所取得的一些数据不好解释。Cole(1932) 和 Shapiro(1934) 分别

用海胆卵做过实验，他们都发现卵细胞质膜的表面张力要比纯油滴小得多，前者不到 0.1N/cm²，而后者却可达 1～3N/cm²，甚至更高（1N(牛顿) = 10^5 达因)。1935 年，J. F. Danielli 和 H. harvey 提取了鲐鱼卵的油滴做实验，发现其表面张力很低，如果把这些油滴再进一步提纯，则其表面张力大大提高。但是如果脂滴表面上吸附有蛋白质，则有降低表面张力的作用。因此推想细胞膜中除有脂质外，可能还吸附有蛋白质。于是，J. F. Danielli 和 H. davson 于 1935 年提出了第一个质膜模型——双分子片层模型，也称为 Danielli－davson 模型(图 4－5)。这一模型认为，细胞膜是由两层磷脂分子构成，分子的疏水性碳氢链在膜的内部彼此相对，而分子的亲水端则朝外，亲水端上覆盖着一层球形蛋白质分子。

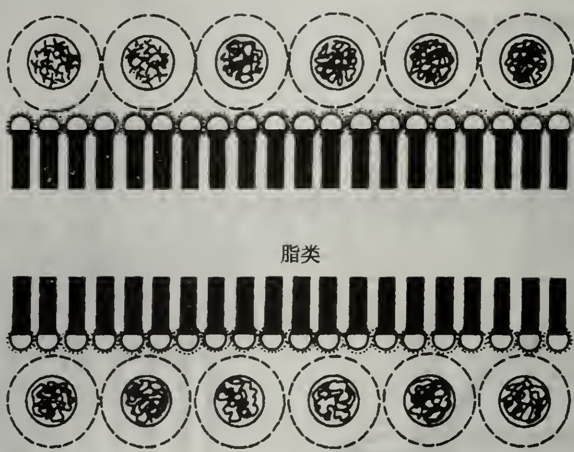


图 4－5　J. F. Danielli 和 H. Davson 最初提出的质膜双分子片层模型
膜由两层球形蛋白质层夹着磷脂双层构成(Danielli，J. F. and davson，H.　1938)

后来，为了解释质膜对水通透性高这一事实，Danielli 又对其模型做了多次修改，修改后的模型主张，质膜上有的部位有小孔穿过脂双层，小孔是由蛋白质分子围成。孔壁的内表面有亲水基，水、极性溶质分子可通过小孔穿过质膜，非极性溶质则直接穿越脂双层(图 4－6)。

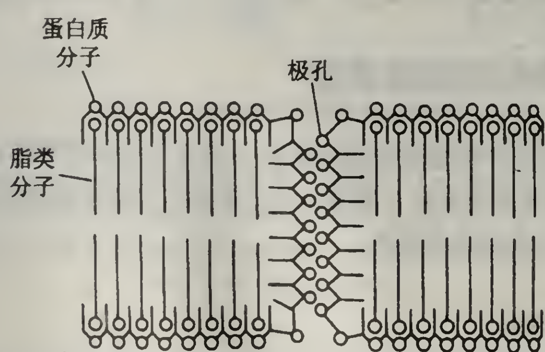


图 4－6　修改后的双分子片层模型，膜中有亲水小孔
（自 Danielli，J. F.　and Davson　1935）

(二)单位膜模型

前面我们所介绍的对质膜化学性质和结构的认识，都是基于所取得的实验数据间接推论出来的，缺少直观资料。光学显微镜的分辨本领差，放大倍数低，在光学显微镜下无法直接观察清楚质膜。这也是长期以来对细胞是否具有细胞膜问题，存在争议的原因所在。20 世纪 30 年代发明了电子显微镜，至 50 年代电镜技术有了很大的改进，其分辨率和放大倍数均大大高于光学显微镜，于是便具备了对质膜进行直接观察的技术手段。50 年代末期，伦敦大学的 J. D. Robertson 利用电镜对动物、植物和微生物等各种细胞的细胞膜和细胞内各种膜进行了广泛的观察，他发现所有这些膜都呈三层式结构，在横切面上表现为两侧为暗线，中央夹着一条明线，暗线厚约 2nm，明线约 3.5nm，膜的总厚度约为 7.5nm(图 4－7)。于是他便根据在电镜下观察到的结果，以及质膜的一些功能指标，提出了单位膜模型(unit membrane model)。他认为，膜中央为脂双层分子，在电镜下显示为明线；膜两侧为展开的蛋白质分子层，在电镜下显示为暗线，展开的蛋白质分子层厚度恰为 2nm。单位膜模型是在 J. F. Danielli 的双分子片层模型基础上提出来的，所不同的是，单位膜模型认为膜两侧的蛋白质分子是展开的，而不是球形的，因为球形蛋白质分子必然要大于 2nm。虽然单位膜模型在对蛋白质分子结构的解释上与双分子片层模型有一定差异，但是却在直观形态上支持了后者。因而 Danielli 更加坚信自己所提出的双分子片层模型的正确性。但是后来实验证明，人工制作的脂双分子层即便是不附着有蛋白质，在电镜下也呈现为暗－明－暗三层式结构。这说明，细胞膜两侧在电镜下所显示出的暗线是蛋白质和脂类分子亲水端经锇酸染色后的反映。



图 4－7　J. D. Robertson 的单位膜模型对质膜解释的示意图

虽然单位膜模型对细胞膜的解释有一定的缺陷，然而却正确地说明了一层细胞膜在电镜下显示为暗－明－暗三层式结构，而且细胞中的各种膜都具有这种影像，因此这种三层式结构即代表一层单位膜，于是“单位膜”这一名称便一直沿用至今。

(三)流动镶嵌模型

单位膜模型的重要贡献在于它把膜的分子结构同膜的电镜图像联系了起来，能对膜的某些属性做出适当的解释。例如：

(1)具有密集的脂类双分子层，故脂类成分占膜重的 40%。

(2)碳氢化合物是不良导体,使膜具有很高的电阻。

(3) 脂溶性高的非极性分子穿膜的通透性高,而膜对脂溶性差的小离子通透性很差。

(4) 磷脂在体外自然环境中可自然形成双分子层,维持这种最小能量构象不需要消耗另外的能量。

(5)能够说明膜经固定、染色后在电镜下呈现为三层式结构的原理。

后来,学者们发现,也有许多膜属性用单位膜模型无法做出满意的解释:①膜结构并不是静止不变的,而是不断地发生动态变化;②各种膜的属性和功能不完全相同,并没有一成不变的统一性;③各种膜均具有各自的特定厚度,变化范围在 5～10nm 之间,例如质膜的厚度为 10nm,而线粒体膜则只有 5～6nm,并不都是 7.5nm;④提取膜蛋白的难易程度不同,有的比较容易,而有的则比较困难,甚至有的要用强烈的去垢剂才能提取出来;⑤各种膜的蛋白质与脂类的成分比率不同。由此可见,要用单一的固定模式来代表各种膜的结构,显然不能令人信服。

至 20 世纪 60 年代,由于新技术的发明和应用,对质膜的认识越来越深入。利用冰冻蚀刻法可显示出膜上有球形颗粒,另外用示踪法表明膜的结构形态在不断地发生变动。于是,S. J. Singer 和 G. L. Nicolson 在 1972 年提出了膜的流动镶嵌模型(fluid mosaic model)(图 4－8)。模型的中心思想主张,构成膜的蛋白质和脂类分子具有镶嵌关系,而且膜的结构处于流动变化之中。

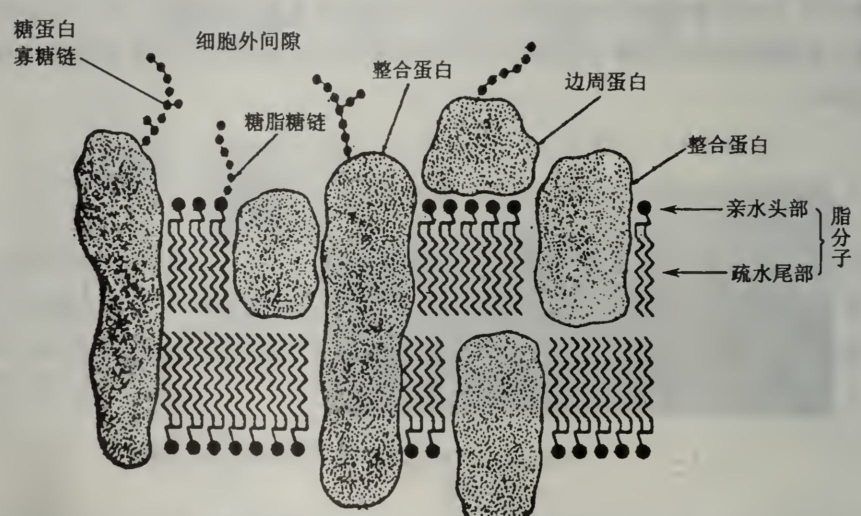


图 4－8　流动镶嵌模型示意图
膜蛋白以不同深度嵌插在脂双层中

膜中的脂类分子成双分子层排列,构成了膜的网架,是膜的基质,一些蛋白质分子即镶嵌在网孔之中。脂类分子为双性分子,分为亲水头端和疏水尾端,头端朝向水相,疏水尾端埋藏在膜的内部。脂双分子层的内外两层是不对称的。在人的红细胞质膜中,含氨基的脂类,如磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸,主要存在于质膜脂双层的内

层，而磷脂酰胆碱（卵磷脂）则存在于脂双层的外层。

膜的另一种主要成分是蛋白质，蛋白质分子有的嵌插在脂双层网架中，有的则黏附在脂双层的表面上。根据在膜上存在的部位不同，膜蛋白可分为两类：以不同深度嵌插在脂双层中的，称为整合蛋白（integral protein）或膜内在蛋白（intrinsic protein）。整合蛋白分子均为双性分子，非极性区插在脂双层分子之间，极性区则朝向膜的表面，它们通过很强的疏水或亲水作用力同膜脂牢固结合，一般不易分离开来，除非采用破坏膜结构或使用去垢剂的强烈方法才能被提出。例如，质膜中的 Na^+，K^+ – ATP 酶即是一种典型的整合蛋白。另一类蛋白质附着于膜的表层，称为膜周边蛋白（peripheral protein）或外在蛋白（extrinsic protein）。周边蛋白与膜的结合比较疏松，不需破坏膜的结构，用温和的方法即可将其分离下来。在人的红细胞内表面有一种红细胞膜蛋白，称为血影蛋白（spectrin），即是一种周边蛋白，它的总重约占红细胞膜蛋白的 20% ~ 25%。无论是整合蛋白还是周边蛋白，至少有一端露出膜表面，没有完全埋在膜内部的蛋白质分子。用冰冻蚀刻法可显示出蛋白质颗粒在脂双层中的分布状况。

流动镶嵌模型除了强调脂类分子与蛋白质分子的镶嵌关系外，还强调了膜的流动性。主张膜总是处于流动变化之中，脂类分子和蛋白质分子均可做侧向流动。

后来有许多实验结果支持了流动镶嵌模型的观点。

（1）细胞融合实验：在第二章中我们曾介绍过，用仙台病毒（Sendai virus）可诱导两种细胞融合成异核细胞。L. D. Frye 和 H. Edidin 于 1970 年报道的细胞融合实验，证明了膜具有流动性。在脊椎动物细胞质膜上有组织相适性抗原，小鼠的称为 H-2 抗原，人的则称为 HLA 抗原。他们用结合有绿色荧光染料的专一抗体标记在小鼠培养细胞的表面上，用结合有红色荧光染料的专一抗体标记在培养的人体细胞表面上，然后将两种细胞经仙台病毒诱导融合。异核体（heterokaryon）最初一半显红色，另一半显绿色。在 37℃ 下培养 40 分钟后，则两种染色标记物完全混匀（图 4 – 9）。

（2）淋巴细胞的成斑和成帽反应：用标记有荧光的多价配体（ligand），如抗体，同淋巴细胞的表面抗原相互作用，即可显示出表面抗原的位置变化。在开始结合时，抗原在细胞表面均匀分布。几分钟之后，抗原 – 抗体结合物的分布便发生了变化，由均匀状态变为簇集分布，随后又集中成斑（patching）。最后，结合物全部集中到细胞的尾端（中心体所在的一端为头端）表面，形成一帽状结构，这一步变化称为成帽反应（capping）。集中成帽的抗体 – 抗原结合物被细胞以内吞的方式吞入细胞内部，被酶所消化，以消除异物对机体的影响。成斑和成帽反应即反映了质膜的流动变化（图 4 – 10）。

（3）凝集素的凝集作用：凝集素（lectin）是具有高度专一性，能够引起细胞凝集的糖蛋白。它存在于许多动植物细胞中，如高等植物种子的伴刀豆球蛋白 A（Con A）、麦胚凝集素等（表 4 – 1）。植物凝集素是从某些植物种子中提取的一类糖蛋白，可同细胞表面的糖蛋白糖基结合，引起细胞凝集。不同的凝集素对一定的糖基具有专一的识别作用。例如，伴刀豆素 A 可同葡萄糖和甘露糖残基结合；麦胚凝集素则同 N – 乙酰葡糖胺专一结合。因此可通过不同凝集素在细胞表面结合的状况来显示细胞表面各种糖基的属性和分布。

有几种细胞的表面上具有腺苷一磷酸酶（AMPase），这种酶亦可同 ConA 结合，结合后也可引起细胞表面发生成帽反应（图 4 – 11）。在成帽过程中，通过分析凝集素结合对酶活性的影响，即可确定由于蛋白质的重新分布引起的酶和细胞属性的变化。正

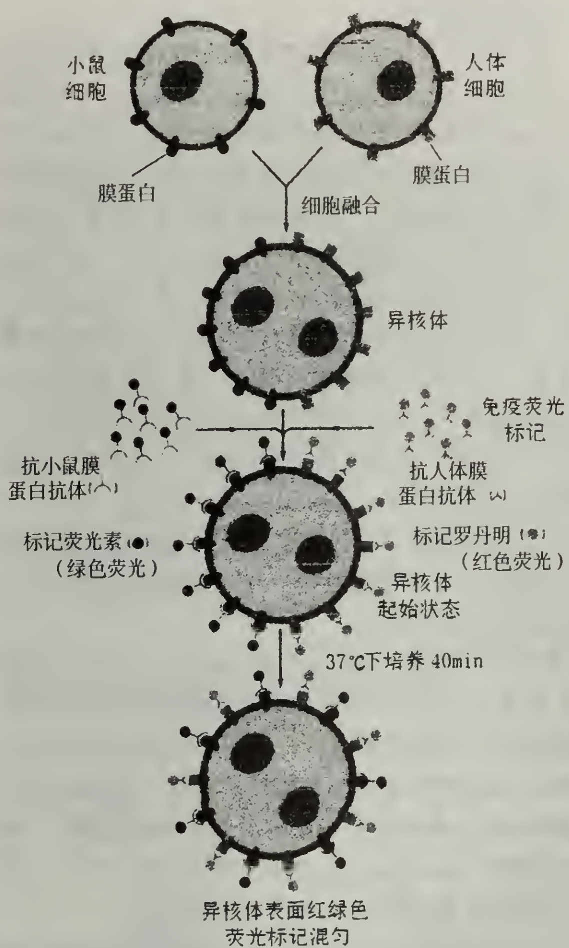


图 4－9　两种细胞融合后，表面抗原逐渐混匀
黑点代表红色标记物，圆圈代表绿色标记物

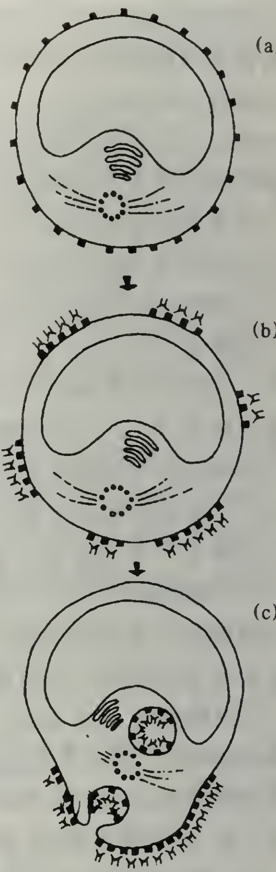


图 4－10　淋巴细胞经专一抗体处理后，引起了成斑和成帽反应，说明质膜的流动变化

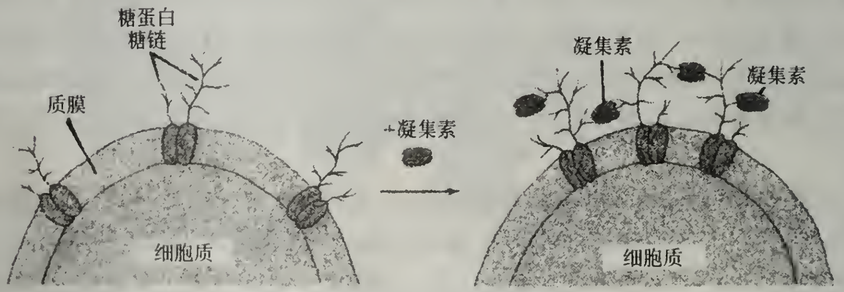


图 4－11

表 4－1　几种常见植物凝集素的属性

名　称	英 文 名	主 要 来 源	专一识别的糖基
伴刀豆球蛋白 A	concanavalin A(ConA)	刀豆(*Conavalia ensformis*)	α-甘露糖、α-葡萄糖
麦胚凝集素	wheat germ agglutinin (WGA)	小麦(*Triticum vulgaris*)胚	N-乙酰葡糖胺
大豆凝集素	soybean agglutinin (SBA)	大豆(*Glycine max*)	D-半乳糖、N-乙酰葡糖胺
豌豆凝集素	pea agglutinin(PA)	豌豆(*Pisum sativum*)	α-甘露糖
花生凝集素	peanut agglutinin (PNA)	花生(*Arachis hypogaea*)	β-半乳糖、N-乙酰半乳糖

常细胞与肿瘤细胞（或转化细胞）在对凝集素的凝集反应方面有明显的差异。肿瘤细胞在植物凝集素的作用下，其凝集素受体很快集中，很容易发生成帽反应，这是肿瘤细胞凝集性增强的表现。也就是说，在同样的凝集素作用条件下，肿瘤细胞比正常细胞更容易发生凝集。

膜的流动性不是质膜所独有的属性，细胞内的各种膜，如内质网膜、线粒体膜等也都具有流动性。流动镶嵌模型能够真实地说明膜的结构和属性。因此流动镶嵌模型便被学术界所普遍接受，成了深入研究生物膜公认的依据。

除了上面介绍的具有代表性的三种模型外，有的学者还提出了另外一些模型，如液晶模型、板块镶嵌模型等，但是这些模型只是对流动镶嵌模型的局部补充，没有根本性的改变。S. J. Singer 和 G. L. Nicolson 因此项创见，而于 1972 年获诺贝尔奖。

根据大量的实验结果，可将膜的特征归纳为以下几点：

(1) 镶嵌性。膜的基本结构是由脂双分子层镶嵌以蛋白质构成，双层脂分子以疏水尾相对，极性头朝向膜外水相。

(2) 流动性。构成膜的蛋白质分子和脂类分子在膜中的位置不是静止不动的，而是不断地发生变化，脂类分子可发生侧向流动和倒翻等变化，蛋白质分子在膜中的位置亦可发生变动。

(3)不对称性。膜两侧的分子性质和结构不同。

(4) 蛋白质极性。膜整合蛋白多肽链的极性区露出膜表面，而非极性区则埋在脂双层的内部，故蛋白质分子既与水溶性分子结合，也可与脂溶性分子亲和。

三、质膜流动性的分子机制

质膜是由脂类和蛋白质构成的，它具有流动性已得到了肯定。脂类构成了膜的基质，蛋白质嵌插在脂基质中。所谓膜的流动性(fluidity)包括了膜脂的流动性和膜蛋白的运动性(mobility)，这些变化均和分子的属性有关。

(一)膜脂的流动性

膜脂的流动性（或者说黏度）随温度的不同而有所变化，或处于液相，或处于固相。例如用磷脂酰胆碱(卵磷脂，lecithin)制成人工脂双分子膜，当温度低于 25℃时，则凝胶化，处于固态（晶态）。当缓慢提高温度，脂双层可由晶态熔融为流动性较大的液态，发生相态转变的温度即为相变温度(temperature of phase transition)。温度低于相变温度时，脂类处于晶态。

1. 膜脂分子的运动方式

在相变温度以上，膜脂分子具有 5 种运动方式：①烃链全反式构象 – 歪扭构象的旋转异构运动。脂酰烃链绕 C—C 键旋转，导致异构化运动，歪扭(gauche)构象增多，流动性加大；②磷脂分子以与膜平面相垂直的轴线左右摆动；③磷脂分子围绕与膜平面相垂直的轴旋转运动；④磷脂分子在膜内沿膜平面侧向扩散或侧向移动；⑤磷脂分子在两层脂分子中作倒翻运动（flip-flop），即脂分子从一单分子层以 180°倒翻到另一脂分子单层中，此种运动方式速度很慢，如红细胞质膜的脂分子倒翻运动半存期为 20 ~

30 秒(图 4－12)。

2. 影响膜脂分子流动性的因素

(1)脂肪酸链的饱和程度。影响膜脂流动性最重要的因素是脂肪酸链的不饱和程度(即含双键的多少),相变温度高低和流动性大小决定于分子排列的紧密程度,饱和的脂肪酸链呈直线形,故可排列紧密。不饱和脂肪酸链在双键处发生折屈,分子链呈弯曲状彼此排列得较疏松(图 4－13)。脂双分子层中含不饱和脂肪酸越多,则相变温度越低(表 4－2),在此温度以上的流动性也越大。换言之,相变温度低的磷脂,温度下降后仍可保持较大的流动性。

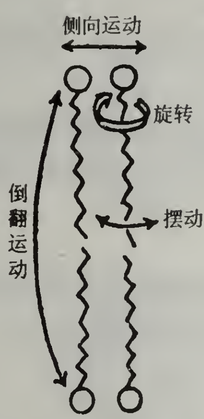


图 4－12　膜脂分子几种运动方式示意图
图中未显示全反式构象与歪扭构象的转变

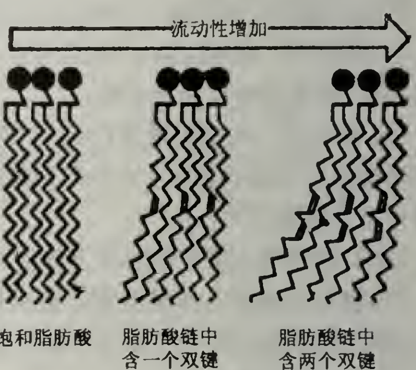


图 4－13　脂肪酸链在双键处发生折屈
膜中含不饱和脂肪酸多的区域较含饱和脂肪酸多的区域流动性大,前者相变温度低,后者相变温度高,后者较容易成晶态

表 4－2　十八碳脂肪酸的熔点温度

脂　肪　酸	双　键　数	熔点温度(℃)
硬脂酸	0	70.
油　酸	1	14
亚油酸	2	－5
亚麻酸	3	－11

(2)脂肪酸链的长度。脂肪酸链的长度对相变温度也有一定的影响,链短的相变温度低,流动性大。

(3)胆固醇/磷脂的比值。在相变温度以上胆固醇含量的增加可提高膜脂的有序性,从而降低膜脂的流动性。

(4)卵磷脂/鞘磷脂比值。卵磷脂的脂肪酸不饱和程度高,相变温度低;鞘磷脂的脂肪酸饱和程度高,相变温度高,且幅度宽(25～80℃)。在 37℃下,二者均呈液态,但在此条件下,鞘磷脂的黏度(η)却比卵磷脂大 6 倍,因而鞘磷脂含量高则流动性低。

(5)膜蛋白的影响。膜脂结合蛋白质后,也会影响脂质的流动性。当膜脂发生相变时,蛋白质会影响脂分子的协调效应,使相变温度范围变宽。

此外,膜脂的极性基团、环境温度、离子强度、金属离子等均可对膜脂的流动性产生一定的影响。

在影响膜脂的流动性的因素中，脂肪酸本身的不饱和程度起着主要作用。膜脂的相变温度与其流动性密切相关，而相变温度决定于膜脂的不饱和程度。膜脂流动性的大小对膜的功能活动，特别是酶的活性，具有重要影响。例如，膜脂的流动性对肌质网膜小泡的钙运输酶的活性影响很大。如果把小泡膜中 99% 的脂类置换成相变温度为 -22℃ 的二油酰卵磷脂(dioleoyl lecithin)，则钙运输酶(一种 ATP 酶)在测试的各种温度下均具有活性。然而，如果用二豆蔻酰卵磷脂（dimyristoyl lecithin）（相变温度为 24℃)来置换，这种 ATP 酶在温度低于 24℃ 时便丧失活性。

(二)膜蛋白的运动性

在各种情况下，膜蛋白均可发生位置上的变动。膜蛋白的运动方式主要有侧向扩散和绕与膜平面相垂直的轴线旋转，前者是指膜蛋白沿膜的二维表面运动。前面我们所举的膜是具有流动性的一些例证，即是膜蛋白发生侧向扩散的反映。各种膜蛋白的运动速率不一样，其侧向扩散系数在 $10^{-9} \sim 10^{-13}$cm/s 之间(表 4-3)。

表 4-3 生物膜中的蛋白质侧向扩散系数

膜	种 类	方 法	温度(℃)	D(cm/s)
红细胞	蛋白质(?)	荧光标记	20~23	3×10^{-12}
异核体	抗原	荧光标记	40	2.5×10^{-10}
视杆细胞外节(蛙)	视紫质	吸收	37	5×10^{-9}
成纤维细胞	蛋白质	荧光标记	23	2.6×10^{-10}
伤寒沙门氏杆菌	蛋白质(?)	铁蛋白标记	25	3×10^{-13}
肌纤维(培养)	蛋白质(?)	荧光标记	40	1.2×10^{-9}
3T3 成纤维细胞(小鼠)	蛋白质(?)	金属微粒	37	$<2\times10^{-10}$

(自 Jain and white 1977)

膜蛋白的运动性要受其所处的微环境的制约：

(1)周围膜脂的性质和相态。质膜不同的区域，膜脂的相态不同，处于流动的液态区与处于不流动的晶态(凝胶态)区可相间分布。不流动的晶态脂质形成了滞流区，处于此区中的膜蛋白不易运动；反之，处于液态区的膜蛋白则易于发生运动。

(2) 质膜相关结构的作用。膜蛋白在膜中的运动并不是随脂质随机漂流，它还要受与膜相关的结构的影响。例如，在红细胞质膜内表面有一种称为血影蛋白(spectrin)的纤维蛋白，纤维蛋白的端部经短的肌动蛋白丝而相互连接成网，并通过踝蛋白(ankyrin)、带 4.1 蛋白(band4.1 protein)、带 3 蛋白(band3 protein)等蛋白质和质膜建立了联系(图 4-14)。红细胞质膜的表面糖蛋白同多价配体结合后，细胞并不发生成斑和成帽反应，这主要是由于以血影蛋白为主构成的网架固定了膜蛋白的位置，使膜蛋白不易簇集集中。但是如果将血影蛋白除掉，则膜整合蛋白扩散的速率大大提高。有实验表明，红细胞质膜经抗血影蛋白抗体作用后，即可引起膜整合蛋白的簇集（图 4-15)。

(3) 细胞骨架的作用。细胞质中的细胞骨架对膜蛋白的运动性具有动态控制作用。微管与微丝对膜蛋白的运动性作用相反，微管可固定膜蛋白的位置；而微丝可引起膜蛋白运动，发生成帽反应。无论是肌细胞还是非肌细胞都含有收缩蛋白，这些蛋白质对膜整合蛋白的运动性都具有影响(图 4-16)。S. J. Singer 实验室的工作证明了膜蛋白的分布与收缩蛋白的存在具有相应的关系。他们选用了小鼠 A10 细胞(一种平



图 4-14　人红细胞质膜细胞质侧由血影蛋白等构成了网架

A. 网架结构模式图;B. 经负染色后显示出的电镜图像

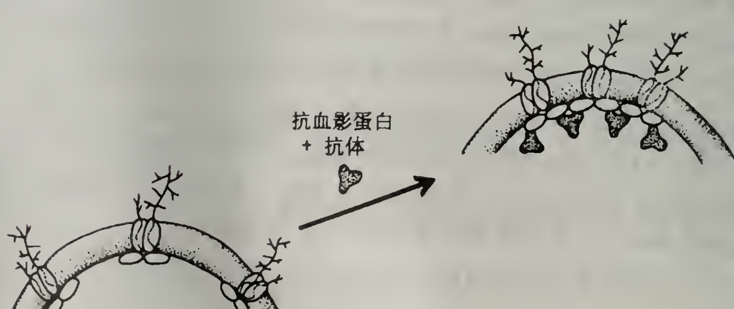


图 4-15　红细胞膜整合蛋白的运动受与质膜相关结构的制约(自 Nicolson, G. L. 1976)

当用抗血影蛋白抗体处理红细胞质膜时,可引起膜整合蛋白的簇集反应

滑肌样细胞系)为实验材料。实验使用了双标记法,使用的荧光剂既可同细胞骨架物质结合,也可同暴露在表面的膜蛋白发生特异性结合。所测定的膜蛋白有 ConA 受体

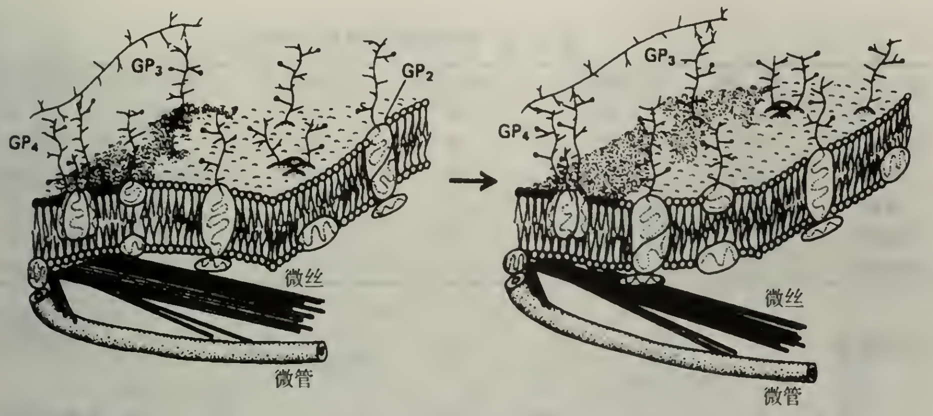


图 4-16　膜蛋白的运动性受细胞骨架和细胞外物质控制的示意图(自 Nicolson, G. L.　1976)
在膜的内表面,微管和微丝控制膜蛋白的运动;
图中 GP_2 和 GP_4 两种糖蛋白的分布受细胞外物质的影响

蛋白,组织相适性抗原和一些酶。实验结果表明,不管哪一个实验组,膜内表面微丝的分布都同膜蛋白的分布在位置上有着密切的对应关系。细胞骨架不仅可控制膜整合蛋白的运动,而且也可控制膜外表面周边蛋白的运动。这说明,在膜蛋白运动方面必然存在着一种跨膜控制系统(transmembrane control system)。

四、膜的化学组成和结构

根据对细胞的各种膜的微量化学分析结果来看,膜主要是由脂类和蛋白质两大类物质组成。蛋白质约占膜干重的 20% ~70% ,脂类约占 30% ~70% 。各种膜所含的蛋白质与脂类的比例大小同膜的功能有关,因为膜的功能主要由蛋白质承担,因而功能活动较旺盛的膜,蛋白质含量就高(表 4-4)。此外,质膜还含有 10% 的碳水化合物,这些碳水化合物均为糖蛋白和糖脂向质膜外表面伸出的寡糖链,膜整合蛋白普遍为糖蛋白(图 4-17)。

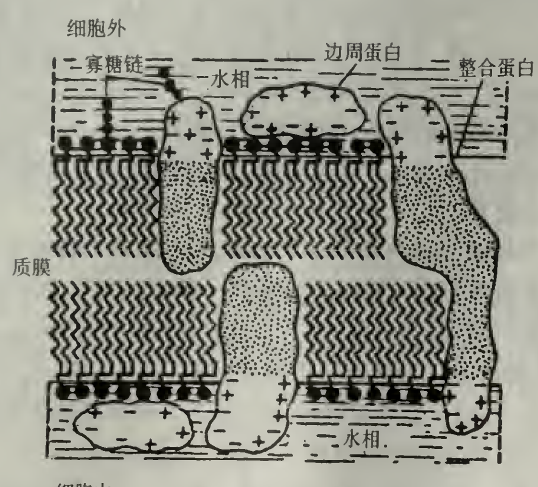


图 4-17　糖蛋白和糖脂的寡糖链均存在于质膜的外表面
图中的电荷代表蛋白质的亲水残基

表 4－4　各种膜的基本化学组成（%）

成　分	髓　鞘	红细胞质膜	肝细胞质膜	心肌线粒体	叶绿体片层	大肠杆菌质膜
蛋白质	22	60	60	76	50	75
总脂含量	78	40	40	24	50	25
磷脂	33	24	26	22	6	25
糖脂	22	微量	0	微量	20	0
胆固醇	17	9	13	1	0	0
其他脂类	6	7	1	1	24	0

（一）膜脂

膜脂主要为磷脂和胆固醇。磷脂约占膜脂总量的 55% ~75%，磷脂主要包括有卵磷脂和脑磷脂（cephalin），此外还有鞘脂（带有一个氨基）和糖脂（结合有寡糖链）。脊椎动物各种细胞的胆固醇/磷脂比值不同。细菌和植物细胞的质膜中无胆固醇。胆固醇有降低液晶态脂双层的通透性和脂分子流动性的作用，而且可增强动物细胞质膜的坚性。脂质构成了膜的基质，约占膜重的 50%。脂双层膜的每 μm^2 约含有 5×10^6 个脂分子，据计算一个小的动物细胞的质膜大约要用 10^9 个脂分子构成。构成膜的脂分子具有如下特性：

(1) 膜脂为双性分子，都具有一个极性头部和两条疏水性碳氢尾。绝大多数脂类在水溶液中可自然形成脂双层结构。由于脂分子具有亲水性头和疏水性尾，故在水溶液中形成结构时便具有这种特点。人工条件下，脂分子在水溶液中往往以两种方式形成结构，一种是脂分子以疏水尾向内，组成球形微粒，此种微粒称为微团（micelles）；另一种是脂分子以疏水尾相对形成脂双层，脂双层片因疏水尾的疏水作用力而自然卷曲成小泡，这种小泡称为脂质体（liposomes）。脂质体不仅在研究膜属性方面具有重要的理论价值，而且在实践中还有重要的应用价值，例如可用脂质体制成某些药物的缓释微粒，以提高药效。

(2)膜脂可沿膜平面做二维流动（参见本章的三（一）膜脂的流动性）。

(3)脂双层的不对称性。细胞中各种膜都是由脂双分子层构成，可区分为两半，即 2 个脂单层，组成 2 个脂单层的脂分子极为不同。例如，人的红细胞质膜，脂双层的外单层几乎全部由头部含胆碱（$(CH_3)_2N^+CH_2CH_2OH$）的磷脂，即磷脂酰胆碱（phosphatidylcholine, PC）[又称卵磷脂（lecithin）]和鞘磷脂（sphingomyelin）所组成；而内单层则是由一端含氨基的磷脂，即磷脂酰乙醇胺（phosphatidylethanolamine, PE）和磷脂酰丝氨酸（phosphatidylserine, PS）所组成。由于磷脂酰丝氨酸（PE）带负电荷，故膜两半的电荷有显著的差异。

真核细胞的各种膜是在内质网膜上合成的，膜两半磷脂分子的不对称性也是从内质网开始的。膜脂都是在内质网膜的胞质一侧的脂单层中合成的，内质网膜中含有合成磷脂的各种酶。合成过程可分为三步：①在脂酰转移酶（acyl transferase）的催化下，连续将两个脂肪酸分子加接到一个磷酸甘油（glycerolphosphate）分子上，合成了磷脂酸（phosphatidic acid）；②在磷酸酶的作用下，磷脂酸脱去磷酸，变为二脂酰甘油（diacylglycerol）；③在胆碱磷酸转移酶（choline phosphatransferase）的作用下，二脂酰甘油结合上胆碱，形成了磷脂酰胆碱。磷脂酰乙醇胺（PE）和磷脂酰丝氨酸（PS），以及磷脂酰肌醇（phosphatidylinositol, PI）的合成途径均如此（图 4－18）。

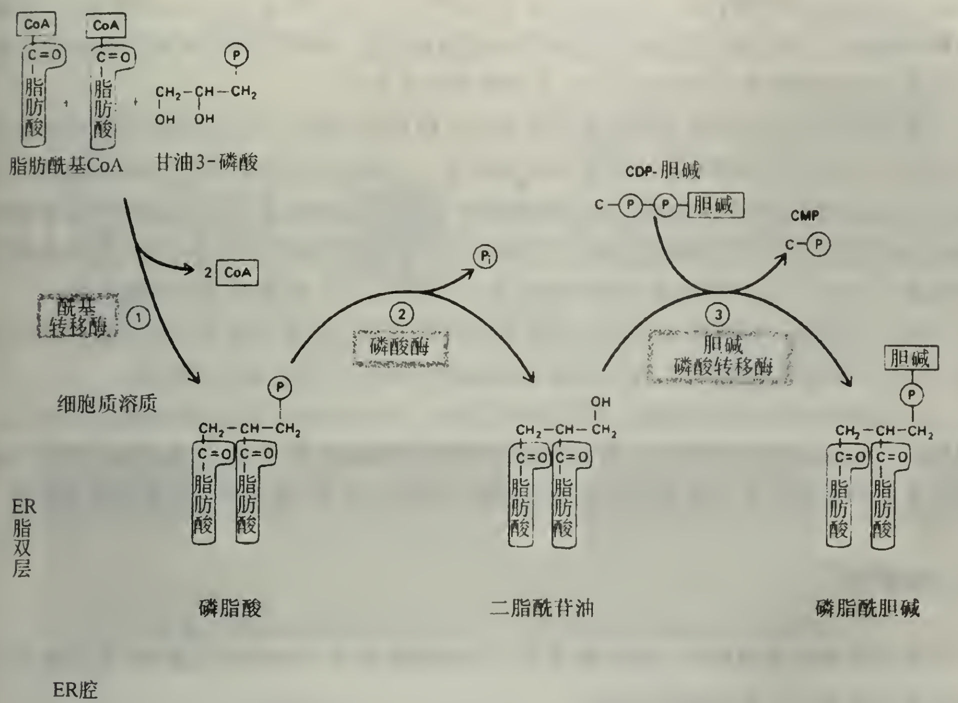


图 4-18 磷脂的合成发生在内质网膜的细胞质溶质面。参加此途径的各种酶都是内质网膜的整合蛋白。图解说明，磷脂酰胆碱是从脂肪乙酰辅酶 A，3 磷酸甘油和胞嘧啶核苷－二磷酸胆碱（CDP－胆碱）经三个步骤合成的

既然，磷脂是在内质网膜的细胞质溶质面（胞质面）脂单层中合成，那么有的磷脂是怎样又易位到另一单层中呢？这主要是由于存在着一种倒翻（flip-flop）机制。磷脂合成后几分钟之内倒翻作用即达到平衡，比自然倒翻作用快了 10 万倍。倒翻作用是靠对头部具有专一性的磷脂易位因子（phospholipid translocators）来完成的。据认为，在内质网膜中含有一种易位因子——翻转酶（flippase），它专门可把含有胆碱的磷脂从内质网膜的胞质面脂单层转移到腔面脂单层，它对含乙醇胺、丝氨酸、肌醇的磷脂无作用。因此，造成脂分子在脂双层中的不对称分布，是易位因子的作用。

胆固醇和 N－脂酰鞘氨醇（ceramide）也是在内质网膜上合成的。N－脂酰鞘氨醇是糖鞘脂的前体物。在高尔基体中，磷酸胆碱头部从磷脂酰胆碱转移到 N－脂酰鞘氨醇分子上，形成了鞘磷脂。由于催化这些反应的酶均存在于高尔基膜的腔面，故只有腔面的脂单层中才含有糖脂和鞘磷脂。由于这些膜脂是在高尔基体中合成，因而产生的时间比较晚。

膜脂双层中，脂分子的不对称性形成之后，并不是稳定不变了，而是在不断的动态变化之中来维持这种不对称性。质膜的外脂单层主要由磷脂酰胆碱和鞘磷脂所组成；而内单层则是由磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺所组成。这种不对称性是靠 3 种酶来维持，即 ATP 依赖氨基磷脂转位酶（ATP-dependent aminophospholipid translocase）、ATP 依赖翻转酶（ATP-dependent flippase）和脂层爬行酶（lipid scramblase）。其中第一种酶能催化磷脂酰丝氨酸（PS）和磷脂酰乙醇胺（PE）从外脂层翻转到内脂层；第二种酶与前者相反，它可把 PS、PE 和 PC 从内脂层翻转到外脂层。两种酶相互协调，共同维持膜脂双层的动态不对称。第三种酶的作用是将磷脂分子进行内外双向翻转（flip-flop），

它是一种钙激 ATP 酶，在一般生理状况下无活性，当 Ca^{2+} 浓度升高时，酶被激活，使脂质翻转加快。而钙离子可抑制氨基磷脂转位酶的活性，使磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺不能及时翻转回来，致使脂双层的不对称性发生紊乱。

膜脂双层的不对称性的维持有着重要的生理意义。例如，结合在质膜胞质面的蛋白质激酶 C 在受到一些细胞外信号作用时被激活，此酶的激活需要有带负电荷的磷脂分子，而在胞质面的脂单层中磷脂酰丝氨酸集中，恰符合这种要求。又如，真核细胞质膜的胞质面脂单层中集中有磷脂酰肌醇，有些专一性的酶被细胞外信号激活后，将磷脂酰肌醇切成了两部分，这两部分在细胞内起扩散中介物的作用，将信号传至细胞内部。

有一些疾病，在膜脂双层的不对称方面有所反映，如镰刀状贫血病、糖尿病红细胞、未分化肿瘤细胞等疾病，都有质膜脂双层的不对称性发生紊乱的现象。

(4)质膜外表面普遍有糖脂。质膜脂双层脂分子的不对称性还表现在糖脂的分布上。膜脂约占外脂单层脂类的 5%。所有细胞质膜的外表面都含有糖脂，它在细胞与周围环境相互关系中发挥作用，还在细胞识别和电绝缘方面具有作用。细胞内有的膜也含有糖脂。

(二)膜蛋白

蛋白质是构成膜的另一种主要成分。虽然膜脂构成了膜的基本框架，但是膜的许多功能是由膜蛋白来执行的。

1. 膜蛋白的存在形式

前面我们已讲过，各种膜因性质和功能不同，膜蛋白的含量也有所不同。有的（如髓鞘）含量不到 25%，而有的和能量转化有关的膜（如线粒体和叶绿体膜），其蛋白质的含量却可达 75%。细胞质膜的蛋白质含量约占膜重的 50%，膜脂分子与膜蛋白的分子数量比约为 50∶1。

在膜蛋白中，有的为跨膜整合蛋白 (integral protein)，有的为附着在膜表面上的周边蛋白 (peripheral protein)，前者约占膜蛋白总量的 70%。周边蛋白，有的是通过寡糖链与脂双层表面共价结合，有的则附着在其他膜蛋白上（图 4－19）。整合蛋白为双性分子，它具有亲水区和疏水区，其穿膜部分为疏水区，同脂双层脂分子的疏水尾相互作用。亲水区则暴露在膜表面，与水相接触。

有些在细胞质溶质中的蛋白质则通过酰胺键或硫醚键同脂肪酸链或异戊烯基共价结合(图 4－20)。

2. 整合蛋白的穿膜构象

跨膜蛋白，有的是一次穿膜，有的是多次穿膜，其穿膜部分的肽链大都以 α- 螺旋构象插在脂双层内部。也有的跨膜蛋白是以 β－折叠片构象穿膜，β－折叠片多次穿膜，并围成筒状结构，称为 β 筒（β barrel），例如孔蛋白(porin)的穿膜结构即是如此。

3. 整合蛋白的糖基化

大多数整合蛋白在质膜外表面结合有寡糖链，从而成为糖蛋白 (glycoprotein)。其合成机制可参见第十四章。

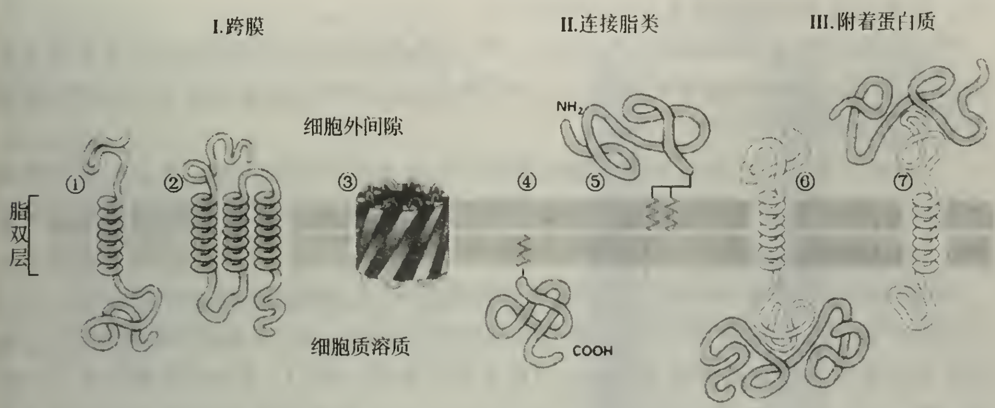


图 4－19　膜蛋白在膜中的几种结合形式

大多数穿膜蛋白是以 α 螺旋一次①或多次②穿膜。其中有些蛋白质同细胞质脂单层中的脂肪酸分子共价结合①；有的膜蛋白是构成 β 折叠片筒（β barrel）穿膜③；有的周边蛋白通过寡糖链同外脂单层中的磷脂酰肌醇结合④；还有许多蛋白质是以非共价作用力与其他膜蛋白结合（⑤、⑥），⑦

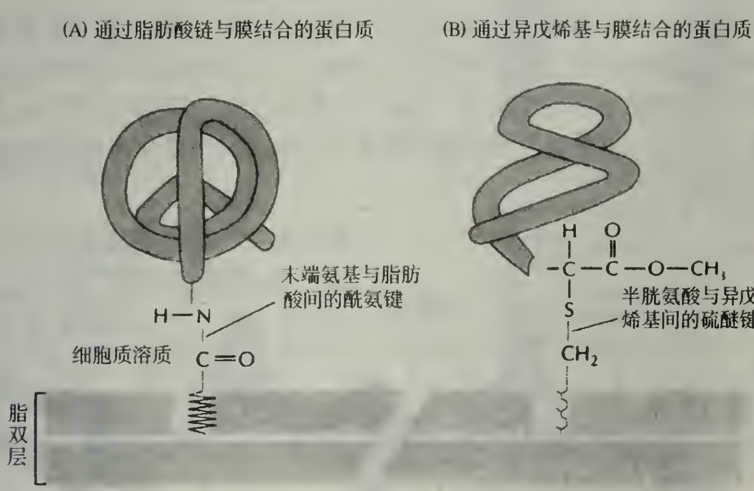


图 4－20　有些水溶性蛋白质在细胞质溶质中合成后同细胞质脂单层之分子共价结合的两种类型：酰胺键结合（A）；硫醚键结合（B）

4. 膜蛋白的种类

根据功能的不同，可将构成膜的蛋白质区分为三类：运输蛋白（transport protein）、受体蛋白（receptor protein）和酶。但这三类蛋白质的界限并不严格，有的膜蛋白则兼具两种功能。详述见下文。

5. 血影膜蛋白

血影（溶血后剩下的红细胞质膜）是研究膜的结构和化学组成的良好材料。这方面的研究积累了大量资料，有助于对质膜结构的了解。血影的膜蛋白主要由以下几种：

（1）血型糖蛋白（glycophorin）。此蛋白质是一种一次穿膜的小糖蛋白分子，共含有 131 个氨基酸残基。它以亲水性的氨基端暴露在质膜的外表面，NH_2 端上结合有 16 条寡糖链，总共为 100 个糖残基，糖残基中约有 90% 为唾液酸，故质膜外表面显负电

性。其亲水性羧基端暴露在细胞质溶质中。

虽然血型糖蛋白是红细胞质膜中的一种主要蛋白质，但其功能尚未完全查清。有的实验表明，它与 MN 血型有关，故名。血型糖蛋白的外端是流感病毒的受体和植物凝集素的结合部位。

(2)带 3 蛋白。此蛋白质在红细胞质膜中具有重要的生理功能。在 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳中，此种蛋白质的电泳带出在第三位，故名。它为多次穿膜蛋白，其肽链由 930 个氨基酸残基组成。

带 3 蛋白的主要功能是促进阴离子的穿膜运输。红细胞的功能是在肺与组织间进行气体交换，把 O_2 从肺带向组织，把 CO_2 从组织带向肺。CO_2 在水中的溶解度极差，故 CO_2 在血浆中是以重碳酸氢盐(HCO_3^-)离子形式存在。HCO_3^-是在红细胞内形成和降解。带 3 蛋白起阴离子传递体的作用，使 HCO_3^-与 Cl^-穿膜交换，从而使 HCO_3^-可自由穿膜渗透，增加了血液向肺运输 CO_2 的量。

$$H_2O + CO_2 \longleftrightarrow HCO_3^- + H^+$$

(3)血影蛋白(spectrin)。它是附着在红细胞质膜内表面的一种纤维蛋白，含量较大，约占膜结合蛋白的 25%。

血影蛋白是构成红细胞质膜内侧网架的主要蛋白质。它是由两个结构类似的亚基，头尾并列螺旋组成的异二聚体。两个异二聚体头－头相接，形成四聚体，4～5 个四聚体的尾端有短的肌动蛋白丝连起来，构成了血影蛋白网，共同结合到其他骨架蛋白上(包括带 4.1 蛋白)。血影蛋白网架通过踝蛋白(ankyrin)与带 3 蛋白结合，把网架同质膜连接起来(图 4－21)。

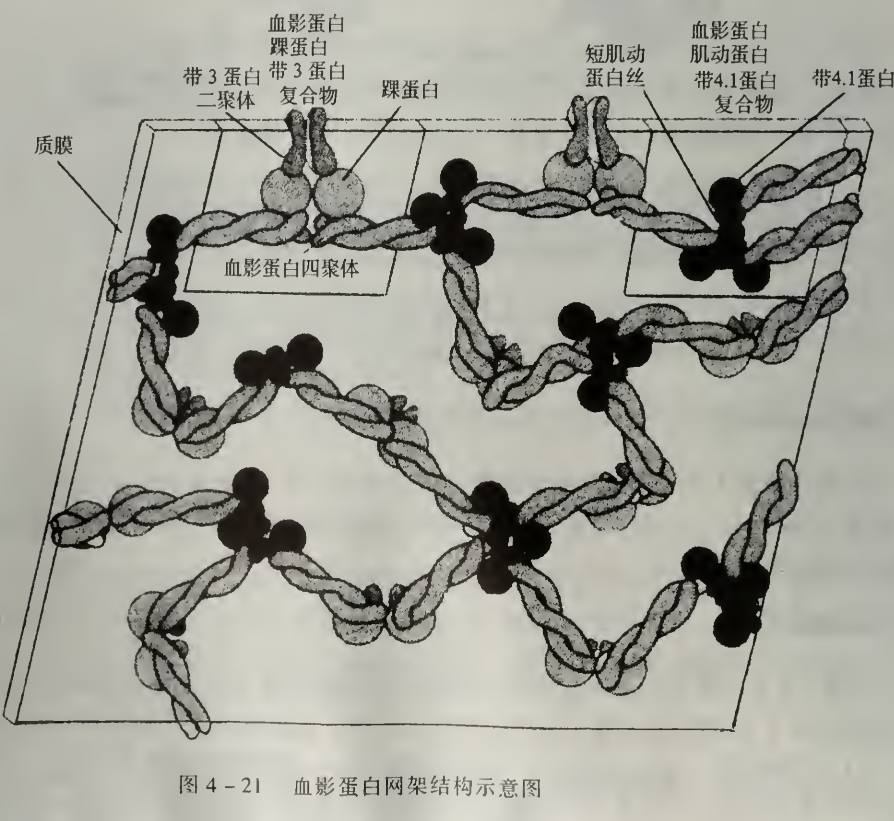


图 4－21　血影蛋白网架结构示意图

血影蛋白的功能是使红细胞保持双凹盘状外形，并能有效地耐受毛细血管的挤压应力。破坏血影网架，红细胞即变成球形。

其他具核细胞的质膜下方也存在着类似的网架结构，在质膜下构成了细胞质的皮质区(cotex)。皮质区中肌动蛋白丝含量丰富，还存在着结构类似于血影蛋白、踝蛋白和带 4.1 蛋白的蛋白质。

利用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳技术，可将上述几种血影膜蛋白分离开来，并测出各种成分的分子量（图 4-22)。

从上述内容可以看出，膜结构的不对称性也表现为膜蛋白在脂双层中的分布不平衡。

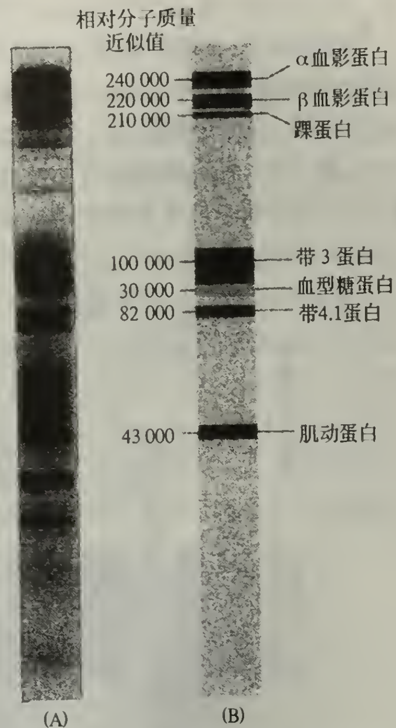


图 4－22　利用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离出的血影膜蛋白成分及其分子量
(A)电泳图像；(B)电泳模式图

五、细胞外被

动物细胞表面存在着一层富含糖类物质的结构，称为细胞外被（cell coat）或糖萼（glycocalyx）。用重金属染料，如钌红，染色后，在电镜下可显示出这层结构。此层结构厚约 10～20nm，边界不甚明确(图 4－23)。细胞外被具有一定的独立性，去掉细胞外被，并不会直接损伤质膜。J. H. Luft(1976)把质膜与细胞外被比作

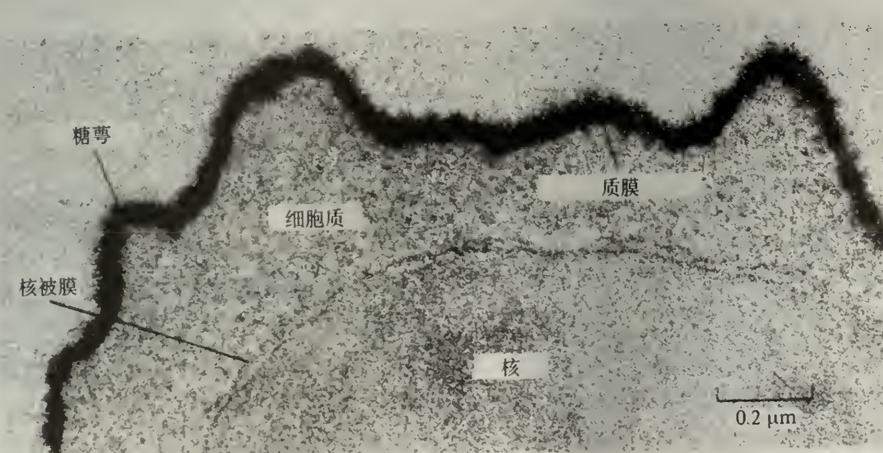


图 4－23　淋巴细胞经钌红染色后，在电镜下显示出的细胞外被图像

“皮”与“毛”的关系，这个比喻比较形象。

研究表明，细胞外被是由构成质膜的糖蛋白和糖脂伸出的寡糖链组成的，因此它实质上是质膜结构的一部分（图 4－24）。寡糖链含有 9 种糖基，它们是：D－葡萄糖、D－半乳糖、D－甘露糖、L－岩藻糖、L－阿拉伯糖、D－木糖、N－乙酰－D－葡糖胺、N－乙酰－D－半乳糖胺和 N－乙酰神经氨酸（又称唾液酸）。其中前 6 种糖为简单单糖，后 3 种为带乙酰氨基的单糖。最后一种最为复杂，为神经氨酸和甘油衍生物，最常

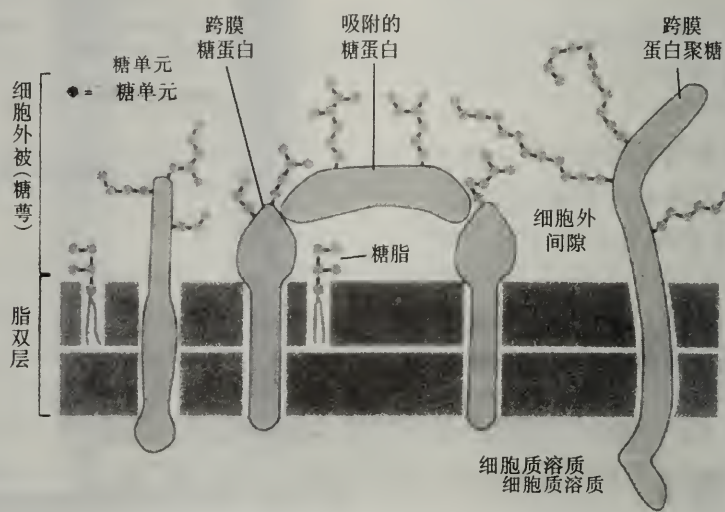
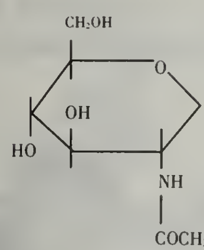
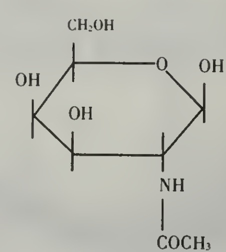


图 4－24　细胞外被（糖萼）与质膜的结构关系图解

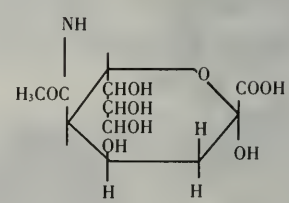
见的一种为神经氨酸。后 3 种的结构式如下：



N－乙酰－D－葡糖胺



N－乙酰－D－半乳糖



N－乙酰神经氨酸

糖脂的含量很少，一般不超过膜脂总量的 5%。组成糖脂寡糖链的单糖残基通常在 8 个以下，最近端的一个多为葡萄糖。糖蛋白的寡糖链一般由 10 几个单糖组成，最多不超过 25 个。糖蛋白中的糖含量变化很大，少的在 1% 以下，多的则可超过 60%，寡糖链以其还原端与其蛋白质部分的氨基酸共价结合。

细胞外被中，糖蛋白和神经节苷脂的寡糖链带有唾液酸末端，显负电性，故可同 Ca^{2+}、Na^{+} 等阳离子结合。如果用神经氨酸酶处理细胞外被则可去掉唾液酸，从而导致表面负电荷减少。

质膜有许多重要的生理功能都和细胞外被有关。

(一)细胞识别

早在 20 世纪初即已发现,细胞有“物以类聚”的现象。H. V. Wilson(1907)用绸布将活海绵筛滤成分散的细胞，培养一段时间后，细胞聚集成团，最后形成了一个新海绵。如果将来自两种海绵分散开的细胞混杂起来,经培养后,两种细胞可自动分离开,同种细胞相聚(图 4 – 25)。

细胞识别现象在高等动物中亦存在。Townes 和 Holtfreter(1955)把两栖类动物的原肠胚 3 个胚层的细胞分散后，混合培养，结果 3 个胚层的细胞均自行分类聚集，分别参加其来源胚层的组建。更有意义的是,这样形成的 3 个胚层在空间排列位置上仍类似原肠胚的构建形式，即外胚层在外，内胚层在内部，而中胚层则介于前二者之间(图 4 – 26)。在鸟类和哺乳动物亦存在类似的情况。有人(Moscona, A. A. 1979)将鸡胚组织用胰蛋白酶分散成单个游离细胞,制成细胞悬液,进行旋转培养。结果经如此处理后，细胞对来源组织仍具有记忆能力，细胞仍按来源组织相聚。如果将鸡胚细胞

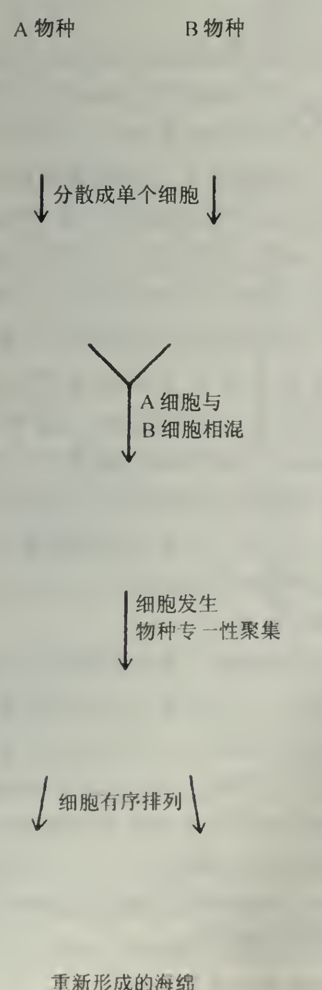


图 4 – 25 将两种海绵的细胞相混，经培养一段时间后，两种细胞分别同种相聚

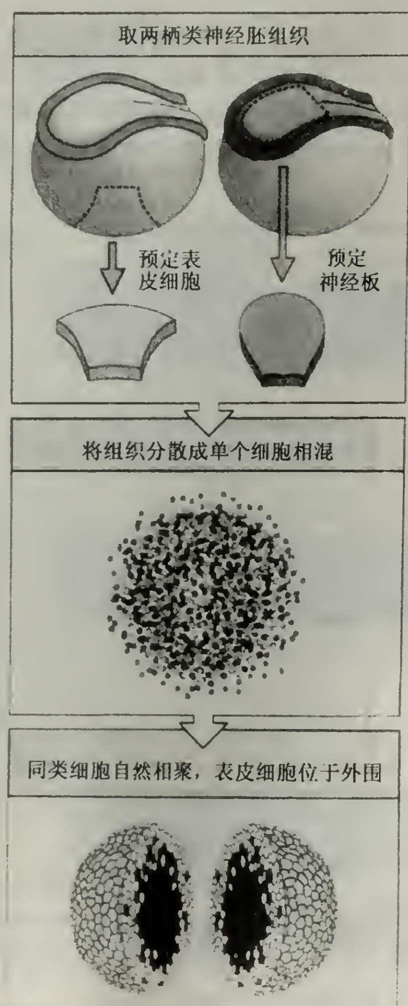


图 4 – 26 两栖类神经胚细胞分散后混合培养，3 个胚层细胞各自按原来的来源分别相聚和组建(自 Wopert, L. 1998)

和小鼠胚细胞分散后相混培养，各种细胞仍按来源组织分别聚集，但与海绵实验结果不同的是，相聚细胞只具有组织的专一性，而没有物种的分辨能力。

细胞识别与构成细胞外被的寡糖链密切相关。寡糖链由质膜糖蛋白和糖脂伸出，每种细胞寡糖链的单糖残基具有一定的排列顺序，编成了细胞表面的密码，它是细胞的"指纹"，为细胞的识别形成了分子基础。同时细胞表面尚有寡糖的专一受体，对具有一定序列的寡糖链具有识别作用。因此，细胞识别实质上是分子识别。这种识别关系已为琼脂糖小珠实验所证实。实验发现，小鼠成纤维细胞可黏着到含有半乳糖的小珠上，而不能黏附到含有葡萄糖或 N－乙酰葡糖胺的小珠上。这说明，细胞表面具有半乳糖的受体，可与其他细胞伸出的含半乳糖的寡糖链相互作用，从而使细胞相互黏聚到一起。如果细胞表面的糖类物质受到破坏，细胞彼此就不能黏聚，待正常糖萼恢复后，细胞则又重可黏聚。

中性白细胞的炎症反应也具有分子识别的性质。中性白细胞质膜的糖蛋白和糖脂的寡糖链具有 GlcNAc<Fuc / Gal-NANA 序列，此序列可被一种称为选择蛋白(selectin)所识别。选择蛋白是一类细胞间黏合分子，也是一种凝集素(lectin)。炎症时，炎症部位的细胞可释放出一种化学介导物作为信号，诱发炎症部位的血管内皮细胞表达 P－选择蛋白。P－选择蛋白是一种跨膜糖蛋白，其伸出细胞表面的分子链末端具有一结合碳水化合物的凝集素区，该区对上述中性白细胞的寡糖链序列具有专一识别作用，从而使血管内皮细胞与中性白细胞发生黏合（图 4－27）。但这种黏合比较疏松，白细胞在血流的冲击下仍可沿血管内皮滚动。随后，另一种称为整联蛋白(integrin)的跨膜蛋白被激活，加强了内皮细胞同白细胞的黏着，使白细胞停止了滚动。于是中性细胞通过血管内皮细胞间的接缝爬出血管，进入炎症部位组织。

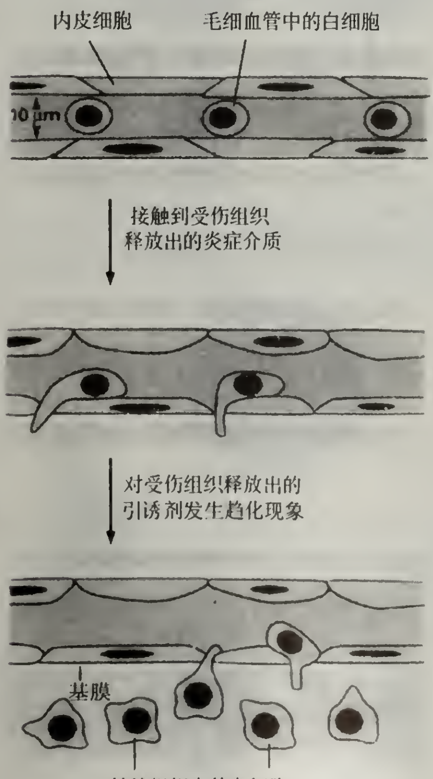


图 4－27　选择蛋白与中性白细胞糖萼中的寡糖链相互作用导致炎症部位的血管内皮细胞与中性白细胞发生暂时性黏合

实验证实，淋巴细胞也是以同样的过程（即选择蛋白介导黏合和整联蛋白介导黏合）迁移出血流，进入淋巴结。白细胞、血小板和内皮细胞的细胞表面均可出现各种选择蛋白，引起血液中的细胞发生广泛的细胞间黏合。由此可见，细胞表面受体与转移序列的寡糖链结合是细胞识别的一种重要的分子机制。

(二)血型抗原

血型是指红细胞表面抗原差别所形成的类型。人体红细胞有 20 几种血型系统，前面介绍的 MN 血型即是其中的一种，血型糖蛋白的分子结构已查清(图 4－28)。人类最基本的血型是 ABO 血型。红细胞质膜上的糖鞘脂和糖蛋白是 ABO 血型系统的血型抗原，血型特异性的分子基础是糖链的糖基组成。A、B、O 三种血型抗原的糖链结构基本相同，只是糖链末端的糖基有所不同。A 型血的糖链末端为 N- 乙酰半乳糖；B 型血为半乳糖；O 型血则缺少这两种糖基(表 4－5)。

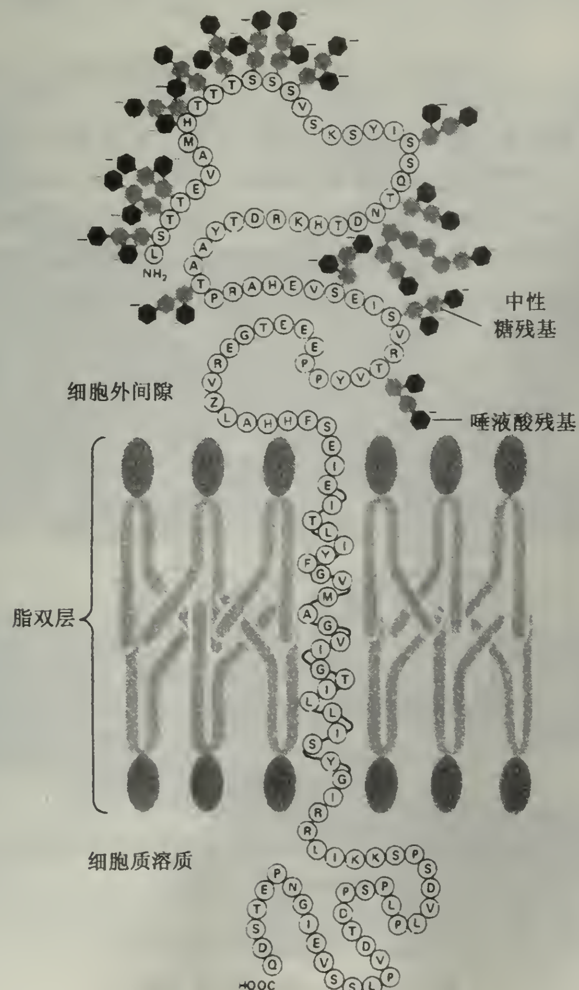


图 4－28　红细胞质膜中血型糖蛋白的分子结构

多肽链的亲水性氨基端伸向质膜外侧，而疏水部分插在脂双层中，亲水性的羧基端伸入细胞质中。组成肽链的氨基酸的代表字母的意义见本书附录部分

表 4-5 ABO 血型抗原的糖链结构

血型	细胞表面抗原	血浆抗体	可受血型	糖链序列
A	A	抗 B	A 和 O	R—Glu-Gal-GlcNAc-Gal-GalNAc (Gal 上连 Fuc)
B	B	抗 A	B 和 O	R—Glu-Gal-GlcNAc-Gal-Gal (Gal 上连 Fuc)
AB	A 和 B	无	所有	R—A 型和 B 型糖链序列
O	无	抗 A 和抗 B	O	R—Glu-Gal-GlcNAc-Gal (Gal 上连 Fuc)

注：R，红细胞的膜脂和膜蛋白；Fuc，岩藻糖；Gal，半乳糖；GalNAc，N 乙酰半乳糖胺；GlcNAc，N 乙酰葡糖胺；Glu，葡萄糖

（三）酶

细胞外被中有的糖蛋白具有酶活性。例如，小肠上皮细胞的游离端，表面上的糖萼即与消化有关，有一些糖蛋白是消化酶，如碱性磷酸酶、氨肽酶和二糖酶等。糖萼中含有消化碳水化合物和蛋白质的各种酶，这些酶在质膜中的嵌插深度不同，有的为周边蛋白，如二糖酶；有的则为整合蛋白，如碱性磷酸酶和氨基肽酶。氨基肽酶的内端甚至插进微绒毛的内芯中（图 4-29）。有的酶为受体蛋白，在细胞信号转导中发挥重要作用（参见第十三章）。

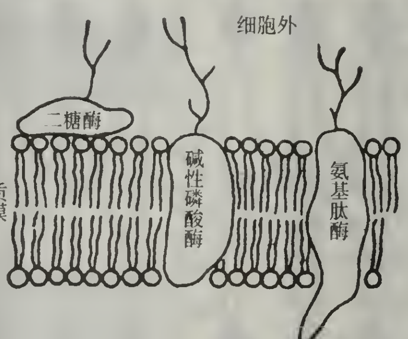


图 4-29 小肠上皮细胞外被中的几种消化酶在脂双层中的镶嵌方式
其寡糖链成为糖萼的组成部分

第二节 细胞连接

多细胞生物的组织中，细胞与细胞间和细胞与细胞外基质间往往形成一些结构关系，这些结构称为细胞连接（cell junctions）。细胞连接结构体积很小，在光学显微镜下无法看清，只有在电镜下才能观察到（图 4-30）。按功能这些连接结构可分为三大类，即封闭连接（occluding junctions）、锚定连接（anchoring junctions）和通讯连接（communicacating junctions）。从结构上看，细胞连接可分为 9 种（表 4-6）。下面我们主要根据结构将其逐一进行介绍。

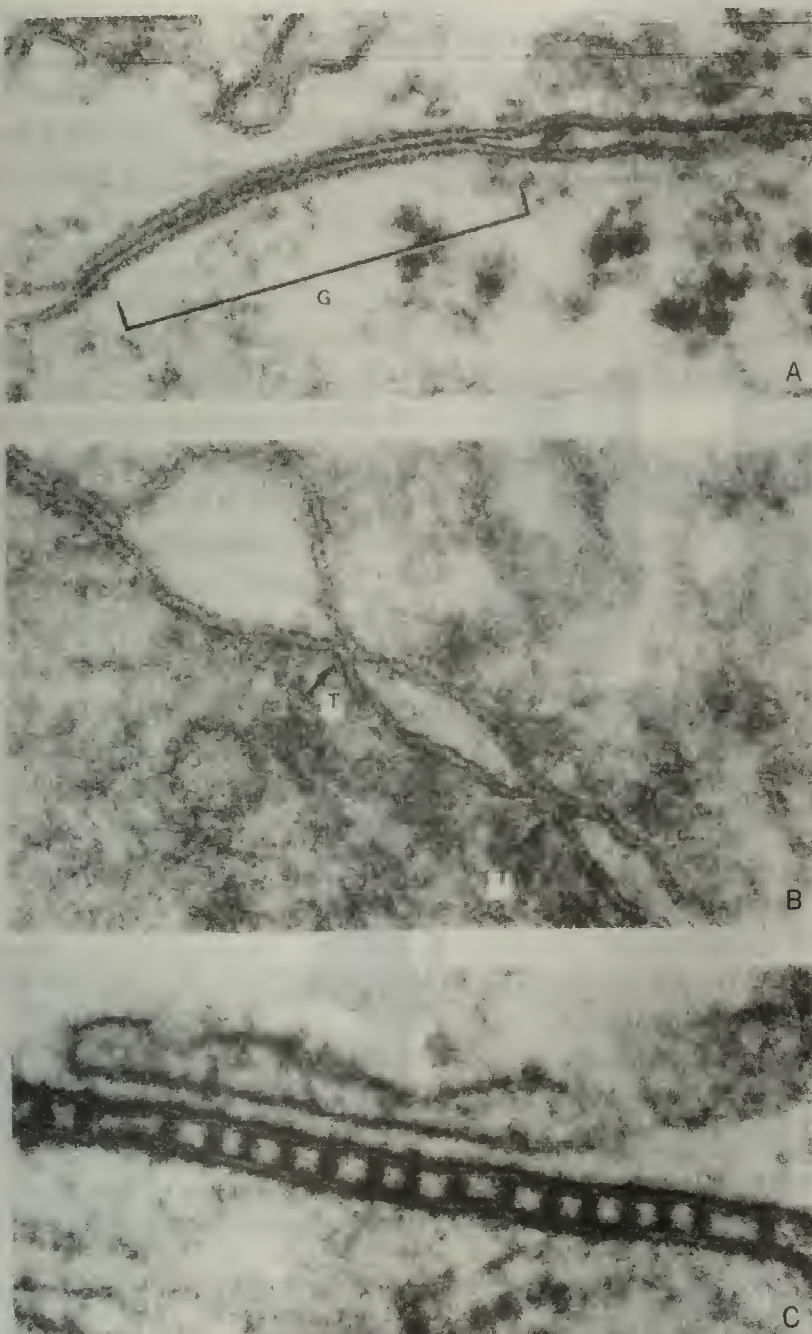


图 4-30　电镜下观察到的细胞连接
A. 间隙连接；B. 紧密连接；C. 隔状连接

一、紧密连接

紧密连接(tight junction)又称封闭小带(zonula occludens)，主要是存在于脊椎动物上皮细胞间以及表皮细胞间的连接。这种连接环绕细胞表面形成带状区，与其四周相邻细胞构成连接。在连接区内，细胞质膜上有许多跨膜蛋白质分子排成分支的链索条，它

表 4－6　细胞连接的分类

功能分类	结构分类	主要分布
封闭连接	紧密连接	上皮组织
锚定连接	Ⅰ、连接肌动蛋白丝	
	①细胞间黏合连接(亦称黏合带)	上皮组织
	②细胞与基质间黏合连接(点接触)	上皮细胞基部
	③隔状连接	只存在于无脊椎动物中
	Ⅱ、连接中间丝	
	①桥粒	心肌、表皮
	②半桥粒	上皮细胞基部
通讯连接	①间隙连接	大多数动物组织中
	②化学突触	神经细胞间和神经－肌肉间
	③胞间连丝	植物细胞间

们与相邻细胞质膜上的链索条对应结合，将细胞间隙密封起来(图 4－31)。

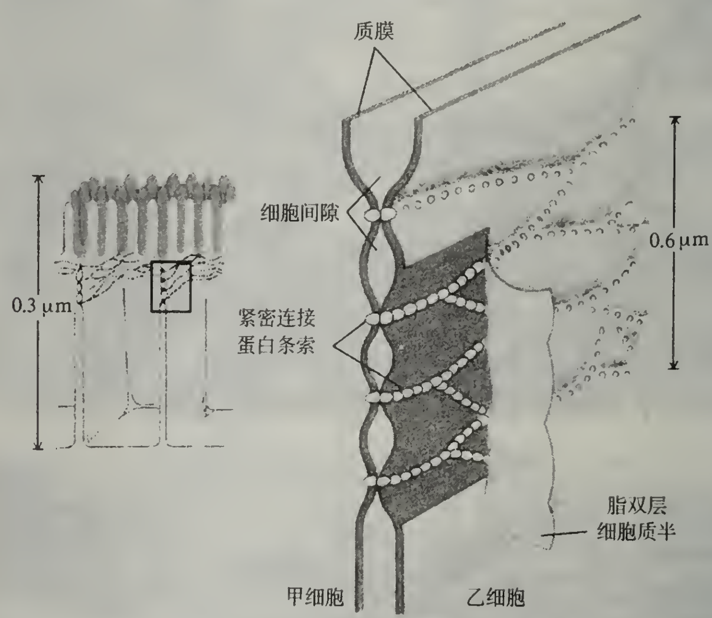


图 4－31　紧密连接结构示意图(自 Stachlin, L. A. and Hull, B. E.　1978)
示密封线是由相邻细胞质膜各提供成行的蛋白质颗粒密合而成

在切面上看，连接区质膜的一些位点发生融合。用冰动断裂技术显示出，融合处是相邻细胞质膜中的整合蛋白颗粒对应结合，沿质膜排列成条索。条索分支、吻合，从而形成了分支的链索网。

形成紧密连接的跨膜蛋白称为 Tj 蛋白，此外在连接部位的质膜内表面还分析出有 4 种蛋白质，它们是：带形蛋白(cingulin)、ZO－1、ZO－2 和 7H6。带形蛋白为二聚体酸性热稳定磷蛋白，分子量约为 140×10^3，分子形成 α－螺旋和超螺旋结构。ZO－1 和 ZO－2 蛋白的分子量均为 220kDa。这四种蛋白质的作用，可能与紧密连接的构建和同细胞骨架连接有关。

紧密连接的主要作用是封闭相邻细胞间的接缝，防止一些大分子在细胞间隙中自由穿行。在各种组织中紧密连接对一些小分子的密封程度有所不同，例如小肠上皮

细胞的紧密连接对 Na^+ 的渗漏程度就比膀胱上皮大了 1 万倍。由于紧密连接的存在，就迫使物质只能穿过细胞进入体内，从而保证了机体内环境的相对稳定。消化道上皮、膀胱上皮、脑毛细血管内皮以及睾丸支持细胞之间都存在紧密连接。后二者分别构成了脑血屏障和睾血屏障，能保护这些重要器官和组织避免或减轻受异物的侵害。紧密连接的另一种功能是防止膜蛋白的自由扩散，使膜蛋白定位于质膜的一定区域之中。

二、黏合连接

黏合连接 (adherens junction) 又称黏合带 (adhesion belt; zonula adherens) 或中间连接(intermediate junctions)。此种连接呈带状，环绕整个细胞，其位置一般位于上皮细胞顶侧面的紧密连接的下方。在黏合带处，相邻细胞间有间隙。间隙两侧的质膜有伸出的跨膜蛋白，相互黏合，将相邻细胞的质膜连在一起(图 4－32)。

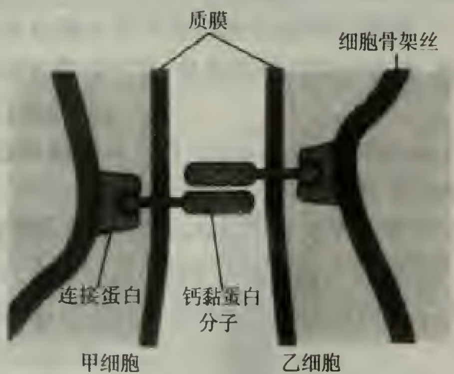


图 4－32 黏合连接结构示意图

间隙中的黏合分子称为钙黏蛋白(cadherins)，迄今已发现有 10 几种。黏合蛋白分子为一次穿膜糖蛋白，约由 700～750 个氨基酸残基构成。其肽链伸出质膜外的部分很长，褶叠成 5 个区，末端 4 个区具有 Ca^{2+} 结合部位。钙黏蛋白的质膜下内端有几种附着蛋白结合在一起，这些附着蛋白包括有：α－，β－，γ－连锁蛋白(catenin)、黏着斑蛋白(vinculin)、α－辅肌动蛋白(α－actinin) 和片珠蛋白(plakoglobin)。黏合带处的质膜下方尚有与质膜平行排列的肌动蛋白丝束，钙黏蛋白通过附着蛋白组与肌动蛋白丝束相结合。于是，相邻细胞中的肌动蛋白丝束通过钙黏蛋白和附着蛋白编织成了一个广泛的穿细胞网，把相邻细胞联合在一起（图 4－33)。钙黏蛋白的活性是高度钙依赖性的，当钙缺乏时，分子便发生构型变化，很快可被蛋白质水解酶所降解。最早发现的 3 种钙黏蛋白（图 4－34)，根据它们的存在部位分别命名为 E－，N－，P－

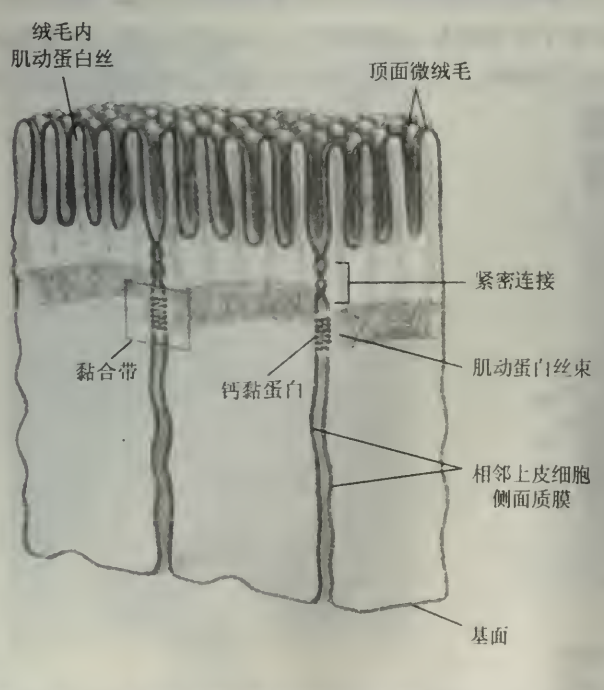


图 4－33 小肠上皮细胞黏合带处的质膜下方存在有与质膜平行排列的肌动蛋白丝束

钙黏蛋白。其中对 E－钙黏蛋白研究得最清楚，它集中存在于上皮细胞间黏合带处。在哺乳动物发育中，它是最早表达的一种钙黏蛋白。小鼠着床前胚胎，在 8 细胞阶段即开始合成钙黏蛋白，它与 8 细胞胚胎的挤紧变化和桑椹胚的形成有密切关系，故最初把这种蛋白质称为葡椹蛋白(uvomorulin)。黏合连接除了具有把细胞连接在一起的作用外，还在早期胚胎形态发生中发挥重要作用，例如胚胎上皮细胞片内陷形成管状或泡状器官原基时，即与黏合连接有关。黏合带处质膜下方的肌动蛋白丝束和肌球蛋白配合可进行收缩，从而使胚胎上皮细胞由柱状变为上窄下宽的楔形，上皮片折屈内陷，形成器官原基(图 4－35)。

细胞与细胞外基质间亦存在黏合连接，使细胞中的肌动蛋白丝束和基质连接起来。连接处的质膜呈盘状，称为黏着斑(adhesion plaques)。在斑处整联蛋白(integrin)把肌动蛋白丝束和基质连接起来，整联蛋白是另一种穿膜连接蛋白，其结构和作用见细胞外基质一章。

三、隔状连接

隔状连接 (septate junctions) 是广泛存在于无脊椎动物组织中的一种特殊形态的连接结构 (图 4－36)。其作用与 黏合连接相同，连接处的质膜下方亦有肌动蛋白丝束，但连接蛋白的性质尚不清楚。

四、桥粒

桥粒(desmosomes)又称黏着斑(macula adherens)，存在于承受强拉力的组织中，如皮肤、口腔、食管等处的复层鳞状上皮细胞之间和心肌中。在连接处细胞间

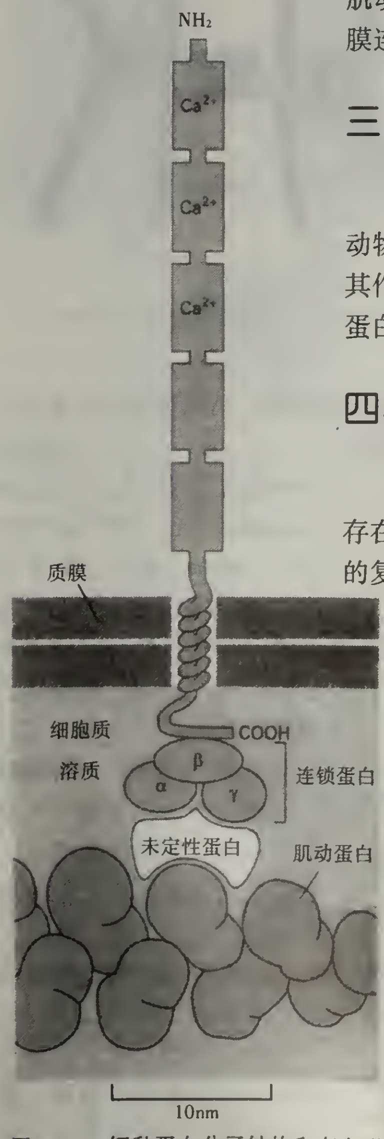


图 4-34　钙黏蛋白分子结构和存在形式
分子的细胞外部分折叠成 5 个类似的区，其中 3 个含有钙结合部位。最远的一个区含有 His-Ala-Val 序列，此序列介导细胞间黏合

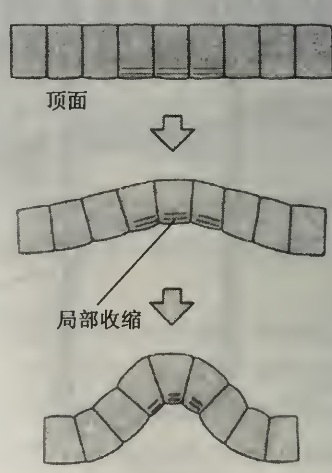


图 4－35　胚胎上皮细胞片局部折曲形成器官原基机制示意图(说明见正文)

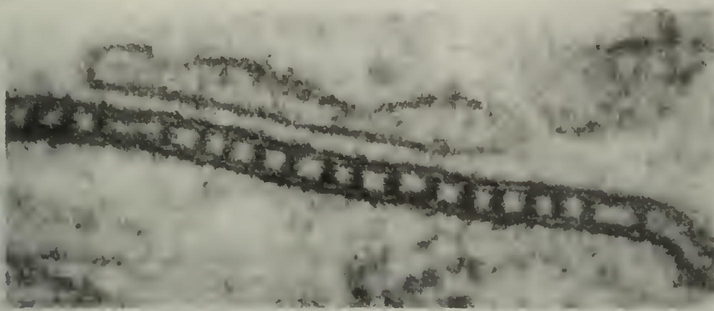


图 4－36　隔状连接的电镜图

形成纽扣状结构，质膜下方有细胞质附着蛋白质，如片珠蛋白（plakoglobin）、桥粒斑蛋白（desmoplakins）等，形成一致密的细胞质斑。斑上有中间丝相连，中间丝的性质因细胞类型而异，在大多数上皮细胞中为角蛋白丝（keratin filaments），而在心肌细胞中则为结蛋白丝（desmin filaments）（图 4－37）。桥粒中将质膜连起来的粘合分子亦为 Ca^{2+} 依赖性的跨膜黏合蛋白。因此相邻细胞中的中间丝通过细胞质斑和钙黏蛋白构成了穿胞细胞骨架网络（图 4－38）。

在上皮细胞基面与结缔组织之间有一层由细胞外基质组成的特化结构，即基膜（basal lamina）。上皮细胞基面与基膜之间也存在有桥粒结构，它与上皮细胞间的桥粒的不同之处在于：①只在细胞中形成桥粒斑结构，故这种桥粒又称半桥粒（hemidesmosomes），其另一侧为基膜；②穿膜连接蛋白为整联蛋白（integrins）家族成员，而不是钙黏蛋白，整联蛋白是细胞外基质的受体蛋白；③细胞内的附着蛋白与桥粒中的不同。表 4－7 列出了几种锚定连接的化学组成。



图 4－37　水螅表皮细胞桥粒电镜图
示细胞质斑上结合有中间丝（角蛋白丝）

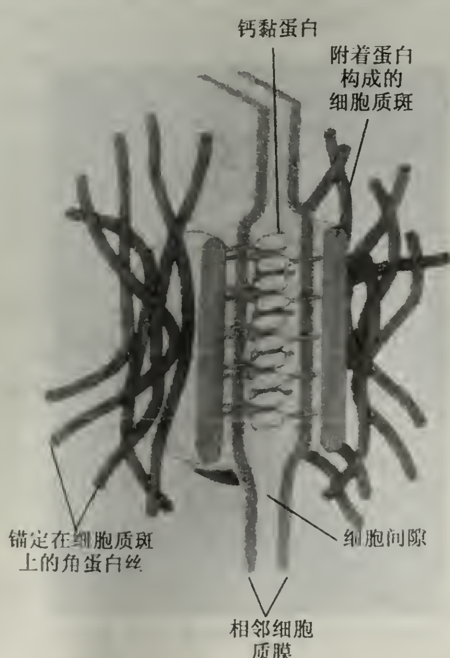


图 4－38　桥粒结构模式图
示细胞质斑上结合有中间丝，并通过钙黏蛋白使相邻细胞相互结合

表 4 - 7 几种锚定连接的化学组成比较

连接名称	穿膜连接蛋白	细胞外配体	结合细胞骨架类型	细胞内附着蛋白
细胞间黏合连接	钙黏蛋白(E - 型)	相邻细胞钙黏蛋白	肌动蛋白丝	连锁蛋白、黏着斑蛋白
细胞 - 基质黏合连接	整联蛋白	细胞外基质蛋白	肌动蛋白丝	踝蛋白、黏着斑蛋白、α - 辅肌动蛋白
桥粒	钙黏蛋白(桥粒黏合蛋白和桥粒胶蛋白)	相邻细胞钙黏蛋白	中间丝	桥粒斑蛋白、片珠蛋白
半桥粒	整联蛋白($\alpha_6\beta_4$)	细胞外基质(基膜)蛋白质	中间丝	桥粒斑蛋白样蛋白质

五、间隙连接

动物界中所有动物的大多数组织都存在间隙连接(gap junction)。在连接处细胞间有 2 ~ 4nm 的缝隙,故名。但是间隙连接最重要的结构成分,是在缝隙中存在着一些由跨膜蛋白构成的通道(图 4 - 39),从而在细胞间建立了电和代谢偶联结构,因此,间隙连接是细胞间一种具有重要通讯功能的通讯连接。

间隙连接处有许多排列规则的微型管道,将相邻细胞的质膜连接起来。这些管道由相邻细胞各提供一半,每一半都是由 6 个跨膜蛋白分子围成,围成的结构单元称为连接子(connexon)。利用冰冻断裂法显示,每一间隙连接含有数百个连接子(图 4 - 40)。围成连接子的跨膜蛋白称为连接子蛋白(connexin),其肽链以 α - 螺旋 4 次穿膜。连接子的中央有亲水通道,允许无机离子和相对分子质量小于 1kDa 的小分子,如糖、氨基酸、核苷酸和维生素,自由穿过通道。但是一些大分子,如蛋白质、核酸和多糖则不能通过。连接子通道的开关可受到调节,降低细胞质基质中的 pH 或提高

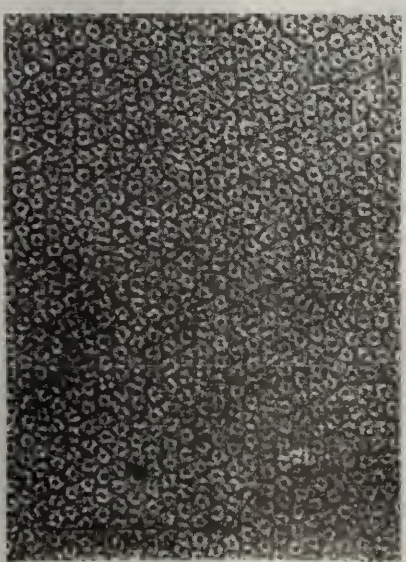


图 4 - 39 质膜横切面上显示出的间隙连接电镜图像(自 Gilula,N. E. 1978)

大鼠肝分离出的间隙连接负染色电镜图,示连接子

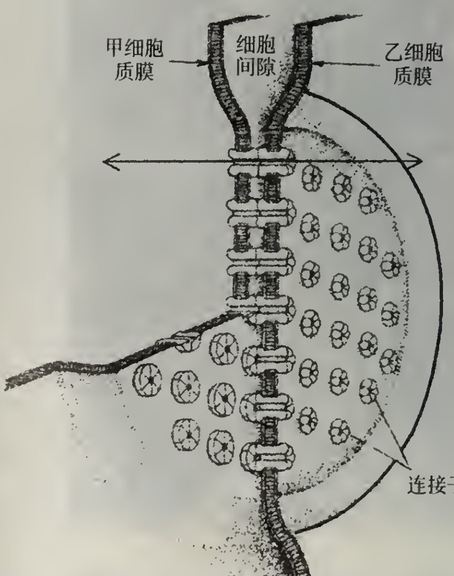


图 4 - 40 间隙连接的连接子结构图解

细胞质溶质中的游离 Ca^{2+} 的浓度，则间隙连接的通透性立即降低。当细胞受到损伤时，质膜渗漏，细胞中的代谢物流出，细胞外高浓度的 Ca^{2+} 和 Na^{+} 进入细胞内，立即引起间隙连接的通道关闭，避免了殃及相邻的正常细胞，造成营养物质流失。有的学者认为，是由于连接子的每个亚单位发生小的扭转，而使通道关闭(图 4－41)。不同组织中的间隙连接，属性有所差异，例如其单个通道的通透性就不同。这种属性差异与形成连接子的连接子蛋白不同有关。在大鼠中就有 11 种连接子蛋白，分布在不同组织中，每一种都分别由不同的基因编码。虽然它们是不同的连接子蛋白，但是它们在结构和功能上极为保守。在培养条件下，具有不同连接子蛋白的细胞之间仍可形成有功能的间隙连接。间隙连接具有很强的自我装配能力，具有连接的细胞分开后连接子即解装配，但细胞相聚后，连接子立即自动重新装配。

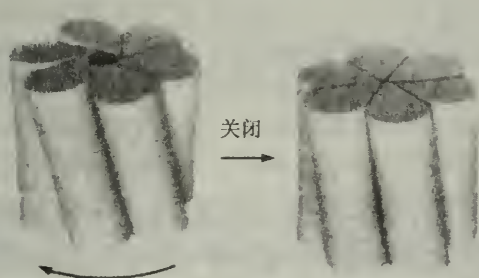


图 4－41　连接子开关机制示意图

钙离子的浓度变化对间隙连接的通透性有调节作用。通常，细胞内的 Ca^{2+} 很低，大约只有 10^{-7}mol/L，在此条件下连接子通透性很高。当胞内 Ca^{2+} 浓度升高时，连接子通道的通透性即随之降低。质膜或连接受伤，胞外 Ca^{2+} 涌入胞内，引起细胞内 Ca^{2+} 浓度升高，通道随即关闭。待伤口修复后，30 分钟内即可和相邻细胞重新建立起有功能的间隙连接。有些抑制代谢的因子也可引起细胞间解除偶联，如低温（8℃）、二硝基苯、氰化物、寡霉素等。这些因子的解偶联作用也是由于引起细胞质中的 Ca^{2+} 增加造成的，增加的 Ca^{2+} 是由细胞外涌入或线粒体释放出来的。经测定，Ca^{2+} 浓度在 10^{-7} ~ 10^{-5}mol/L 区间，连接的通透性随 Ca^{2+} 浓度的升高而逐渐降低，升至 5×10^{-5}mol/L 时，通道即关闭。

间隙连接在细胞间起偶联作用的关键结构是连接子，而不是细胞间的间隙，因此有的学者建议，间隙连接应改称为偶联连接(coupling junction)或孔隙连接。间隙连接在细胞间建立起通讯偶联关系，对细胞和机体的生命活动有着重要的影响，其主要功能有以下几个方面：

(一)细胞分化

多细胞动物是由多种细胞构成，这些细胞均是由一个受精卵分裂、分化而来。脊椎动物在早期胚胎中即建立起化学和电偶联。如小鼠胚在 8 细胞阶段晚期发生挤紧作用(compaction)，与此同时形成了间隙连接和紧密连接。建立偶联的细胞群，细胞相互协调发育和分化。小鼠 8 细胞胚经桑椹胚发育为囊胚，囊胚早期分化出滋养层

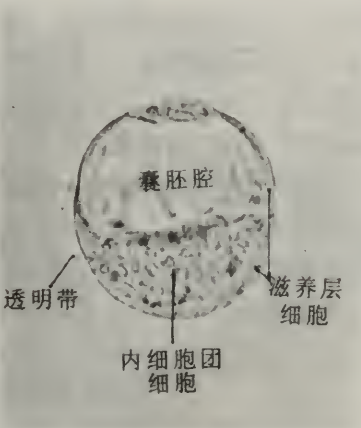


图 4 – 42　小鼠囊胚的光镜图
分化出了内细胞团和滋养层两个细胞系

(trophectoderm)和内细胞团(inner cell mass)(图 4 – 42),后者将发育为胚胎本体,并逐步分化出构成机体的各种细胞。小鼠胚这一最早的分化,与细胞开始建立的间隙连接密切相关。

间隙连接的建立为胚胎上皮提供了一条在细胞间传递信号的途径。某种小分子物质即可在一定细胞群范围内,以分泌源为中心,建立起递变的扩散浓度梯度,以不同的分子浓度为处于梯度范围内的细胞提供"位置信息"(positional information),从而诱导细胞按其在胚胎中所处的局部位置向着一定方向分化。

由此可见,在胚胎发生中,间隙连接为传递控制细胞生长和分化的信息提供了结构基础。

(二)协调代谢

间隙连接允许离子和小分子通过,从而可协调细胞间的代谢活动。例如,在体外培养条件下,把不能利用外源次黄嘌呤合成核酸的突变型成纤维细胞和野生型成纤维细胞共同培养,则两种细胞都能吸收次黄嘌呤合成核酸。这说明,代谢物次黄嘌呤可经间隙连接从野生型成纤维细胞进入突变型细胞中。如果破坏细胞间的间隙连接,则突变型细胞不能吸收次黄嘌呤合成核酸。

细胞间建立间隙连接的能力是由遗传控制机制决定的。有的细胞属于"无通讯"类型,相邻细胞间不能建立间隙连接。例如淋巴细胞即是无通讯类型细胞,有的病人的淋巴细胞缺乏利用嘌呤合成核酸的酶,这种细胞即便是和正常细胞一起接触培养,彼此也不能建立间隙连接,因此细胞间不能出现代谢协调作用,病人淋巴细胞仍不能利用嘌呤合成核酸。有的细胞类型虽然具有形成间隙连接的遗传能力,但其缺乏间隙连接的突变体细胞系,则失去了这种能力,因此突变体细胞即便是同正常细胞一起接触培养,也不能建立间隙连接。癌组织中,细胞间的间隙连接数目显著减少,因此推想,癌细胞的恶性增殖有可能与间隙连接减少和细胞通讯发生障碍有关。

(三)电兴奋传导

在有电兴奋活动的组织内,间隙连接起传导电信号的作用,在细胞间建立电偶联,例如在神经末梢存在的这种间隙连接称为电紧张突触(electrotonic synypses)。电紧张突触无须依赖神经递质或信息物质即可将一些细胞的电兴奋活动传递到相邻的细胞。电传导是瞬息间的活动,因此在保证组织细胞的反应速度和反应的严格同步化方面有着重要意义。鱼和昆虫的逃脱反应,即是利用间隙连接结构来实现的,这要比通过化学突触传递迅速有效得多。又如心肌细胞收缩和保持肠蠕动的平滑肌细胞收缩,间隙连接保证了收缩节律的同步化。产于南美洲和非洲的一些河流和湖泊中的电鳗(*Electrophorus electricus*)和电鲶(*Malapterurus electricus*),以电击捕食小动物,它们的体内具有由大量兴奋细胞构成的电器官,放电时电压分别可达 800V 和 400 ~ 450V。

Bennett 发现，当刺激感应电器官的脊髓运动细胞时，则电器官的所有神经元均同时被激活，同步放电，这种同步冲动的传递即是通过间隙连接实现的。

六、胞间连丝

植物细胞间有独特的通讯连接结构，称为胞间连丝(plasmodesmata)。胞间连丝类似于动物细胞间的间隙连接，在相邻细胞间细胞质通连。但是二者在结构上差别很大，这是由于植物细胞外面包围着厚的细胞壁，相邻细胞的质膜不可能贴近。

胞间连丝是由穿过细胞壁的质膜围成的细胞质通道，直径约 20 ~ 40nm。因此植物体细胞可看作是一大的合胞体(syncytium)。通道中有一由膜围成的筒状结构，称为连丝小管(desmotubule)。连丝小管是由光面内质网特化而成，管的两端各与一个细胞中的内质网相连。连丝小管与胞间连丝的质膜内衬之间，填充有一圈细胞质溶质(cytosol)(图 4-43，4-44)。一些小分子可通过细胞质溶质环在相邻细胞间传递。

胞间连丝在功能上与动物细胞间的间隙连接类似，它亦允许分子量小于 800 的分子通过，在相邻细胞间起通讯作用。但通过胞间连丝的分子运输也要受到调节。实验证明，在胞间连丝正常的情况下，有些低分子量的染料分子却不能通过。然而某些植物病毒能制造特殊的蛋白质，这种蛋白质同胞间连丝结合后，可使胞间连丝的有效孔径扩大，使病毒粒子得以通过胞间连丝在植物体内自由播散和感染。

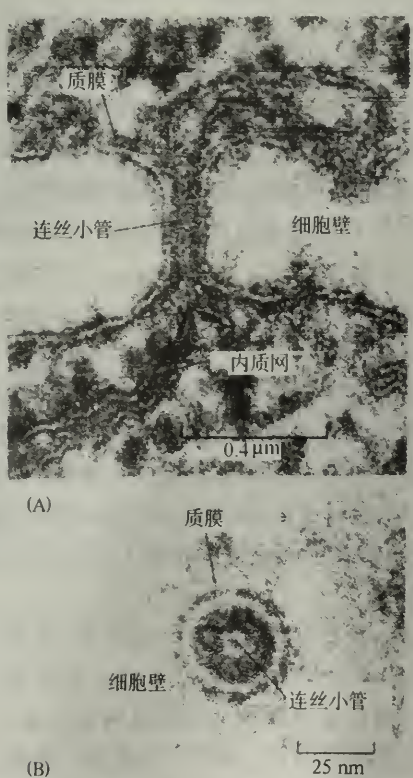


图 4 - 43 胞间连丝的结构

(A)胞间连丝结构图解；(B)电镜下的胞间连丝横切面

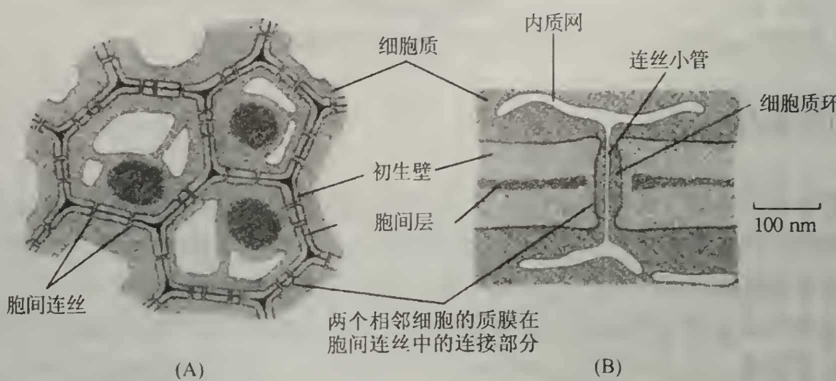


图 4－44　胞间连丝结构图解

(A)两个相邻细胞间的胞间连丝，中央有由内质网形成的连丝小管；(B)胞间连丝纵切面

胞间连丝除有为细胞间物质运输提供通道和调节细胞膨压作用外，它还对细胞分化起一定作用。在高等植物中，顶端分生组织的细胞分化与胞间连丝的分布有着相应的关系。随着细胞的生长和延长，侧壁上的胞间连丝逐渐减少，而横壁上的却仍保持很多。植物相邻细胞间的核物质和染色质可经胞间连丝穿壁，Gates(1911)把这一现象称为细胞交融(cytomixis)。我国有的学者发现，植物细胞核有核穿壁现象，穿壁的通路为胞间连丝。

第三节　质膜的特化结构

在电镜下可以看出，细胞表面并不像在光镜下那样平整。通常动物体内的各种细胞，因功能和生理状态不同，质膜常带有许多特化的附属结构。最明显的特化结构有微绒毛、褶皱、纤毛、鞭毛等，这些特化结构在细胞执行特定功能方面具有重要作用。

一、微绒毛

微绒毛(microvilli)广泛存在于动物各种细胞的游离表面(图 4－45)。它是细胞表面伸出的细长指状突起，一般大致垂直于细胞表面。微绒毛的粗细较固定、直径约为 0. 1μm。长度则因细胞种类和生理状况不同而有很大的差别。小肠上皮细胞纹状缘中的微绒毛，长度约为 0. 6～0. 8μm。一个细胞的微绒毛也因细胞种类不同而有多有少，一个小肠上皮细胞可拥有 3000 多根微绒毛。微绒毛一般存在于细胞的游离面，在培养细胞中，多集中在顶面中央区。

微绒毛的表面被覆着质膜，内芯由肌动蛋白丝束组成，肌动蛋白丝之间由许多微绒毛蛋白(villin)和丝束蛋白(fimbrin)组成的横桥相连。微绒毛侧面质膜有侧臂与肌动蛋白丝束相连，从而将肌动蛋白丝束固定。肌动蛋白丝以正(＋)端朝向微绒毛顶端，顶端的质膜下方有一无定形的深染区，微绒毛的正端与深染区相连。微绒毛蛋白有促进微绒毛形成的作用。成纤维细胞表面，微绒毛既短又极为稀少，且不含微绒毛蛋白，如果向细胞中导入微绒毛蛋白，则会引起短小的微绒毛伸长，并产生一些新的微绒毛。

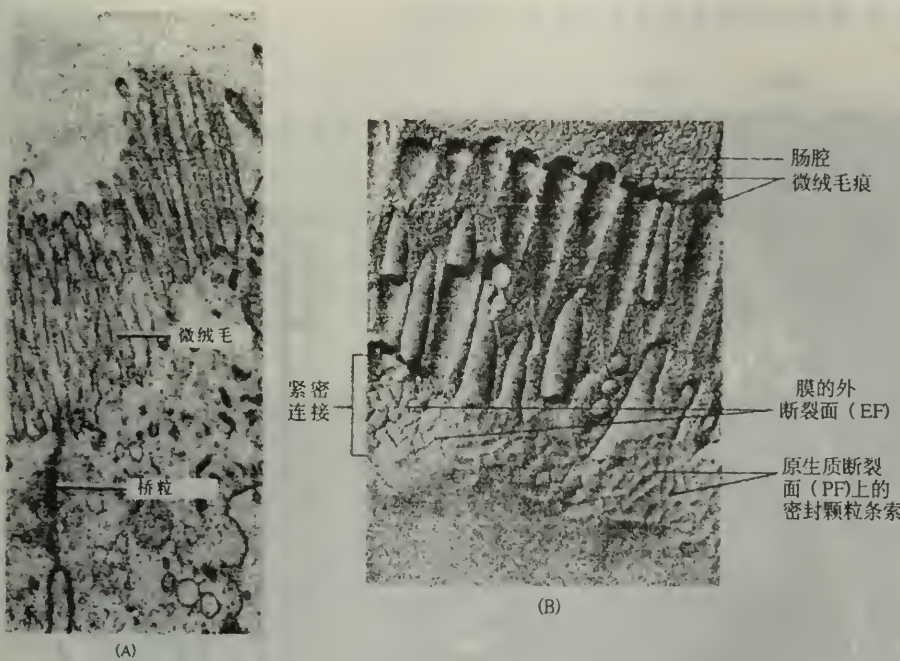


图 4－45　细胞表面微绒毛的电镜图像

(A)蛙肾近曲小管；(B)大鼠小肠上皮冰冻蚀刻电镜图

微绒毛肌动蛋白丝束的基端插入细胞皮层（cortex）中，皮层中含有由肌动蛋白丝束同血影蛋白分子交织而成的网状结构，称为端网（terminal web）。微绒毛的肌动蛋白丝束与端网相连。端网的下方有一中间丝（角蛋白丝）结构层（图 4－46）。端网中的血影蛋白分子有增强皮层区硬度和稳定性的作用，并有助于将微绒毛的肌动蛋白丝束固定在端网中，从而使微绒毛垂直竖立在细胞表面。

微绒毛周边的质膜下方有肌球蛋白－I 和钙调蛋白组成的侧臂，肌球蛋白－I 的尾部嵌插在质膜中，而具有 ATP 酶活性的头部则同肌动蛋白丝接触（图 4－47），但并未发现微绒毛有收缩和运动功能。肌球蛋白 -I 的作用起缆绳作用，牵拉质膜盖在微绒毛的芯上，可使微绒毛顶端形成的含酶小泡将消化酶持续不断地释放到肠腔中。

微绒毛的存在扩大了细胞的表面积，有利于细胞同外环境的物质交换。不论微绒毛的长度还是数量，都与细胞的代谢强度有着相应的关系。例如肿瘤细胞，对葡萄糖和氨基酸的需求量都很大，因而大都带有大量的微绒毛。有些具有吸收功能的细胞，游离面具有固定的微绒毛，如小肠上皮细胞的纹状缘和肾脏近曲小管的刷状缘都是由整齐发达的微绒毛所组成。有人做过统计，小肠上皮每个细胞具有 3000 根微绒毛，从而使细胞的表面积扩大了 30 倍，大大有利于大量吸收营养物质。肾脏近曲小管吸收活动极为活跃，原尿中 85% 的水分和全部糖类，及部分盐类都要在此处被重新吸收，这一繁重任务主要是靠刷状缘的微绒毛来完成。

另外，在细胞游离表面还有一种类似于微绒毛的细长结构，称为微棘（microspikes），特长的则称为丝足（filopodia）（如神经元生长顶端和培养细胞贴壁表面）（图 4-48）。微棘的直径亦为 0.1μm，而长度则差别很大，介于 5～10μm 之间。微棘可以快速形成和缩回，是培养细胞活动的表现。微棘芯部亦由微丝束构成。微棘在细

胞运动、固着和细胞感觉等方面具有一定作用。

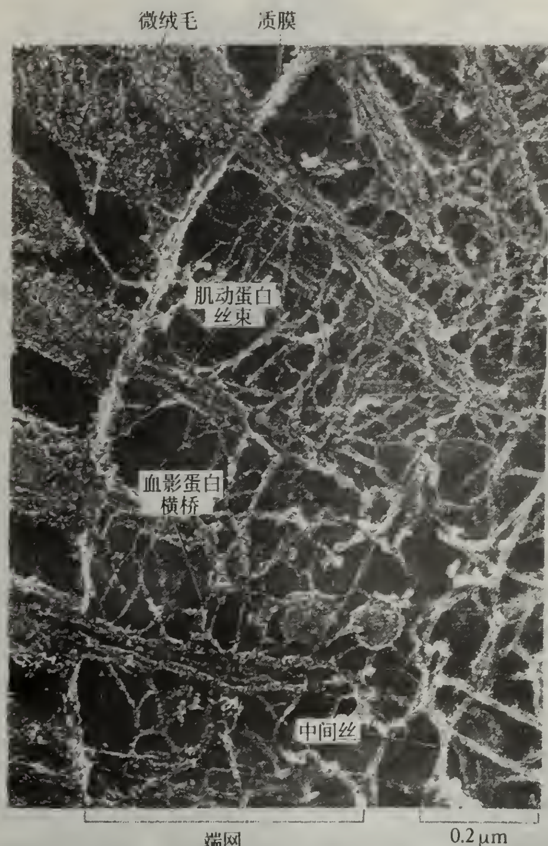


图 4－46　小肠上皮细胞冰冻蚀刻电镜图
（自 Hirokawa, N. & Heuser, J. E. 1981）
示质膜、微丝束和端网结构

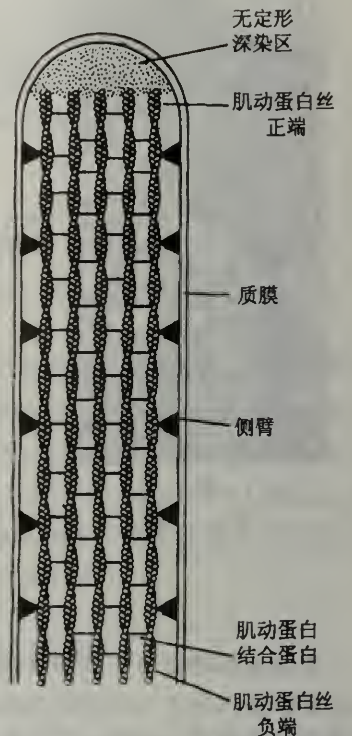


图 4－47　微绒毛分子结构图解
肌动蛋白丝纵向平行排列，正端朝向微绒毛顶端，侧面有侧臂与质膜相连

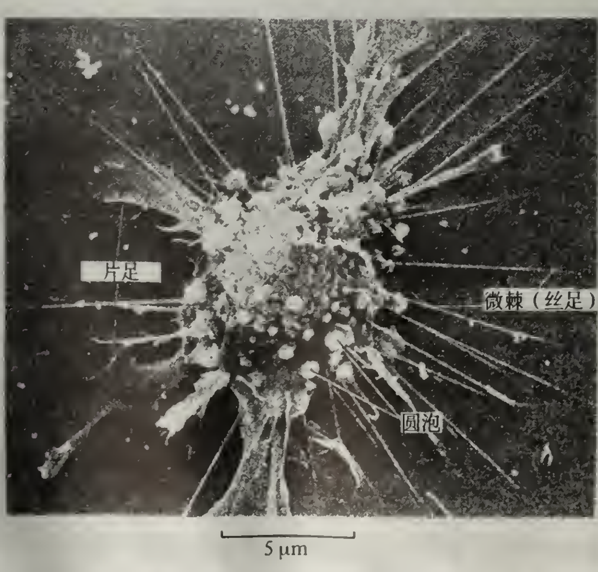


图 4－48　细胞表面伸出的丝足

二、褶皱

在细胞表面还有一种扁形突起，称为褶皱(ruffle)或片足(lamellipodia)。皱褶在形态上不同于微绒毛，它宽而扁，宽度不等，厚度与微绒毛直径相等，约 0.1μm，高达几微米(图 4-49)。褶皱在活动细胞的边缘比较显著，几秒钟之内即可长到最大高度。在细胞边缘长成的褶皱可互相靠拢，包围胞外液体，形成吞饮泡，此即是胞饮现象。在巨噬细胞的表面上，普遍存在着褶皱结构，与吞噬颗粒物质有关。因此，褶皱是细胞的吞饮装置。



图 4－49　扫描电镜下显示出的细胞表面伸出的片足(LP)

三、圆泡

圆泡(bleb)是细胞表面突出的泡状物。它在活细胞表面总是处于发生和消退的动态变化之中。圆泡的直径约 1 至 10 几个微米，大小不等(图 4－50)。小圆泡逐渐长大，长到最大后又收缩变小。圆泡多出现在有丝分裂的晚期和 G_1 期，其功能尚不清楚。

微绒毛、褶皱和圆泡等表面突起，随细胞周期的变化而变化。通过对体外培养细胞的观察表明，在细胞质分裂的晚期和 G_1 期细胞表面遍布圆泡，8～10 小时后进入 S 期，这些圆泡即消失了，细胞表面变得比较平滑。至 G_2 期，细胞体积增大，表面出现微绒毛。至 M 期，细胞表面大量出现微绒毛。

四、内褶

微绒毛和褶皱是由细胞表面向外突起，扩大了细胞的表面积。而内褶(infolding)恰



图 4 - 50　大鼠成纤维细胞分裂末期细胞表面出现圆泡和丝足的扫描电镜观察

与此相反，它是质膜由细胞表面内陷形成的结构，以相反的方式扩大了细胞的表面积。这种结构常见于液体和离子交换活动比较旺盛的细胞。如在肾脏近曲和远曲小管上皮细胞的基部，质膜向内深陷，形成内褶，褶间细胞质中含有较大的线粒体，线粒体的纵轴与细胞的纵向一致，线粒体在此处存在为向毛细血管运送液体活动提供能量（图 4 - 51）。

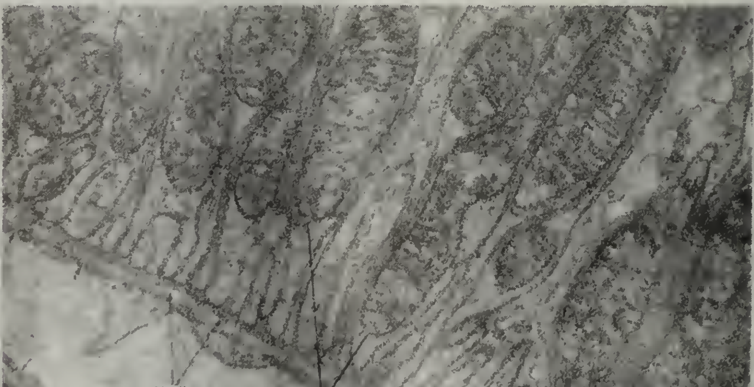


图 4 - 51　肾近曲小管上皮细胞基部深陷，形成许多内褶，毛细血管内皮细胞上有许多窗孔（箭头所示），褶间细胞质中存在有大的长条状线粒体

五、纤毛和鞭毛

纤毛(cilia)和鞭毛(flagella)是细胞表面伸出的条状运动装置。二者在发生和结构上并没有什么差别。有的细胞靠纤毛(如草履虫)或鞭毛(如精子和眼虫)在液体中穿行;有的细胞,如动物的某些上皮细胞,虽具有纤毛,但细胞本体不动,纤毛的摆动可推动物质越过细胞表面,进行物质运送,如气管和输卵管上皮细胞的表面纤毛。纤毛它们都是来源于中心粒。关于纤毛和鞭毛的详细结构和功能可参见细胞骨架一章。

第四节 质膜与物质运输

活细胞是一个开放性的结构体系,它要进行各种生命活动,就必然要同环境发生物质交换关系。质膜是细胞与环境相互作用的前沿结构,质膜不仅是细胞的一堵“墙”,而更重要的是细胞的“大门”,物质进出细胞都要通过这重大门。物质经过质膜进出细胞的运输活动有两种方式,一种是大分子和颗粒物质的膜泡运输(transport by vesicle formation);另一种是离子和小分子的穿膜运输(transmembrane transport)。

一、膜泡运输

大分子和颗粒物质较大量的进出细胞,称为批量运输(bulk transport)。这种运输方式的特点是,物质进出细胞的运转过程都由膜包围,在细胞质内形成小膜泡。膜泡运输与质膜的活动密切相关。质膜内陷,包围细胞外物质,形成小泡后,脱离质膜进入细胞内的过程称为内吞作用(endocytosis)或胞吞。细胞质中的小泡同质膜融合,把所含的物质运送到细胞外的过程称为外排作用(exocytosis)或胞吐。细胞的内吞和外排活动总称为吞排作用(cytosis)。

(一)膜泡运输的类型

根据内吞物质的性质不同,内吞作用可分为三类:

1. 吞噬作用(phagocytosis)

细胞内吞较大的固体颗粒物质,如细菌、细胞碎片等,称为吞噬作用。吞噬现象在原生动物中即广泛存在,是原生动物掠取营养物质维持生存的重要方式。在后生动物中亦存在吞噬现象,但其主要作用是吞噬异物,进行防卫。异物在细胞内被消化后,有的成分亦可作为养料被吸收。在哺乳动物中,中性颗粒白细胞和巨噬细胞具有极强的吞噬能力,巨噬细胞分布于体内各种组织中,是动物机体防卫系统中的重要“卫士”。

在吞噬过程中,首先是细胞伸出伪足包围颗粒物质,将其吞入细胞内,然后形成有膜包围的吞噬体(phagosome)(图 4-52)。

2. 胞饮作用(pinocytosis)

细胞吞入的物质为液体或极小的颗粒物质,这种内吞作用称为胞饮作用。胞饮作用存在于白细胞、肾细胞、小肠上皮细胞、肝巨噬细胞和植物细胞。

细胞周围的某些物质,如蛋白质、氨基酸、离子等,达到一定浓度时,即引起细胞发



图 4－52　白细胞正在吞噬细菌电镜图

生胞饮现象。这些物质作为诱导物，首先同质膜上的转移受体相结合，或靠静电引力同质膜上的糖蛋白相结合，然后在细胞内微丝的作用下，结合部位质膜向内凹陷，包围了这些物质，形成了胞饮小泡(pinocytic vesicle)，进入细胞内部。与质膜受体作用的物质称为配体(ligand)。所谓配体即是指在分子三维结构上能够与专一受体蛋白结合的分子，例如酶的底物分子即是配体，配体的种类多种多样。

有的胞饮小泡很小，学者把这种胞饮过程称为微胞饮作用(micropinocytosis)。其实，微胞饮与胞饮并无根本性的区别，只是前者体积很小，直径只约 65nm。微胞饮的主要作用是摄取和转运蛋白质，它存在于毛细血管上皮细胞、肝细胞、神经纤维上的施旺细胞(Schwann cells)、巨噬细胞、肌细胞、网状细胞等细胞中。

胞饮泡进入细胞之后，先同早期内体(early endosome)融合(早期内体是在细胞边周靠近质膜的小泡，形状不定，内部呈酸性)。在早期内体中，配体与受体分离。带有受体的膜部与含有配体物质部分分离，前者返回，并入质膜，故内吞与外排组成了膜的再循环(membrane recycling)；后者传递给晚期内体(late endosome)(位置靠近核，内部酸性较高)。来源于高尔基体的含溶酶体酶的小泡与晚期内体融合，含内吞物质部分进入溶酶体，而被消化；带有 M6P 受体的膜泡部分则返回高尔基体(见第八章)。有的含内吞物质的小泡，内吞物质不进入溶酶体，而外排到细胞另一侧质膜外，这一物质运输过程称为穿胞运输(transcytosis; diacytosis)(图 4－53)。

3. *穿胞运输*

穿胞运输是机体内物质运输的一种重要方式。在动物组织中，有的细胞介于两个解剖分区的交接处，细胞具有极性，通过内吞和外排相偶联，把一侧形成的胞饮小泡穿越细胞质，在细胞的另一侧使小泡中的物质释放出去。大鼠中，母鼠向仔鼠提供抗体的过程是物质穿胞运输的典型例证。实验表明，母鼠血液中抗体经穿胞运输进入乳汁。乳汁进入仔鼠消化道，在肠腔酸性环境中，乳汁中的抗体与肠上皮细胞顶端质膜

上的受体结合成复合物，形成胞饮小泡，小泡与内体融合后，抗体－受体复合物保持不变，再以出芽的方式离开早期内体，形成运输小泡，运输小泡同细胞另一侧的质膜融合。这时，抗体－受体复合物便暴露到细胞外环境中，细胞外液体的 pH 值为中性，在这一条件下，抗体便与受体解离，进入仔鼠血液中发挥作用。在人体中，母体的抗体也是以穿胞运输的方式从血液进入乳汁，但乳汁进入婴儿消化道后，抗体不再进入血液。

肝细胞从血窦中吸收免疫球蛋白A(IgA)，也是通过穿胞运输输送到胆微管中。肝细胞质膜上有肝细胞合成的 IgA 受体，肝血窦中的 IgA 同肝细胞质膜上的受体结合成复合物。通过内吞作用，复合物进入肝细胞，胞饮小泡穿越细胞质，在细胞的另一侧将抗体外排到胆微管中。

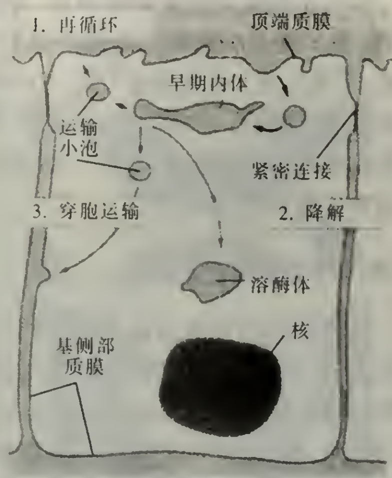


图 4－53　胞饮小泡在细胞内的命运图解
图示三种运输途径：1. 与早期内体融合，再返回细胞表面（再循环）；2. 由内体进入溶酶体降解；3. 穿过细胞质，抵达质膜其他部位

4. 陷穴小泡胞饮

陷穴小泡 (caveolae) 也是由质膜内陷形成的胞饮泡，属于有被小泡一类，直径约 50～100nm。它的结构成分不同于其他小泡。它普遍存在于各类细胞中，尤以内皮细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞最为丰富。小泡形成时，在质膜内表面附着有陷穴蛋白(caveolin)，故小泡形成后，表面覆被有陷穴蛋白，成为陷穴蛋白衣被小泡(caveolin coated vesicles)。陷穴蛋白为跨膜蛋白，分子大小为 22kDa，肽链的 C 和 N 末端均在细胞质溶质中。陷穴蛋白在小泡表面排列成同心圆状线条(图 4－54)。

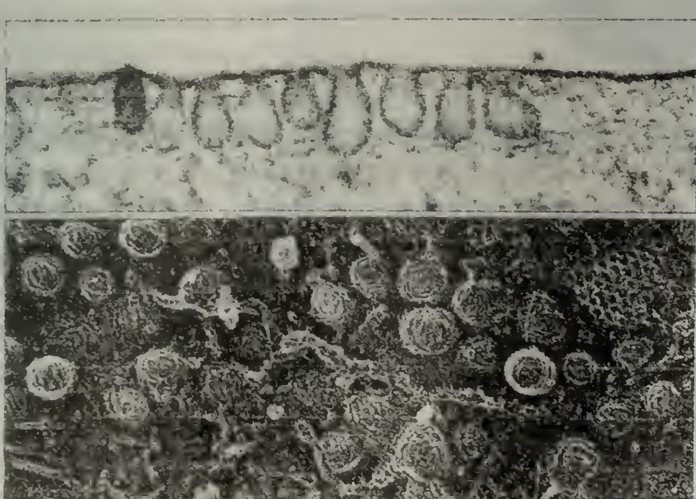


图 4－54　人成纤维细胞质膜上的陷穴小泡
(A) 质膜内陷形成陷穴小泡的电镜图；(B)陷穴小泡在细胞质内的冰冻蚀刻电镜图，示小泡表面的陷穴蛋白呈同心圆状线性排列(自 Rothberg, K. C. et al. 1992)

陷穴小泡膜含有糖基鞘磷脂、鞘磷脂、胆固醇、Ca^{2+} - ATP 酶和糖基磷脂酰肌醇(GPI)等。关于小泡的功能尚不完全清楚，不过根据现有的研究资料来看可能有下述功能：①钙运输：小泡中有 Ca^{2+}-ATP 酶（钙泵）和肌醇三磷酸受体（IP_3R），负责 Ca^{2+}进出细胞的运输；②信号转导：小泡中含有 IP_3R、GPI - 锚蛋白（分子中有两条脂酰链插在质膜脂双层中）、G 蛋白等，可将细胞外信号传入细胞内（参见第十三章“细胞的信号转导和传递系统”）。

5. 胞内膜泡运输

前面所说的穿胞运输是指内吞小泡穿过细胞质，再由质膜其他部位将内含物外排出去，构成了吞排作用（cytosis）的质膜循环。除此以外，细胞内部内膜系统各个部分之间的物质传递也要通过膜泡运输方式进行。例如，从内质网到高尔基体；高尔基体到内质网；高尔基体到溶酶体；细胞分泌物的外排，都要通过过渡性小泡进行转运。

胞内膜泡运输是沿微管运行，运动力来自摩托蛋白（motor proteins）。目前已发现的摩托蛋白有三种：一种是动力蛋白（dynein），可沿微管向负（ - ）端移动；另一种为驱动蛋白（kinesin），可牵引物质向微管的正（ + ）端移动。通过这两种蛋白的作用，可使膜泡被运抵一定区域。还有一种是沿微丝移动的肌球蛋白（myosin）。

外排作用与内吞作用实际上都是和质膜相关的彼此相反的活动过程。有的外排物质是从细胞外内吞进来的，另一些则是在细胞内合成的分泌物质。关于外排作用的机制和过程将在以后有关章节中予以介绍。

（二）受体介导内吞

从上面介绍的细胞内吞过程我们可以看出，质膜上的受体参与了此过程，而且起了不可或缺的作用。受体是可与细胞外专一信号分子（配体）结合，并引起细胞发生反应的质膜蛋白。因此，学者把有受体参与的从胞外吸收专一性的大分子和颗粒物质的过程称为受体介导内吞（receptor-mediated endocytosis）。

1. 衣被小泡的形成

内吞过程的第一步是，细胞外液体大分子同细胞表面的受体互补结合，形成配体 - 受体复合物。参加不同类型受体介导内吞的受体有 25 种以上，其中有的受体只有同配体结合以后才能向衣被小窝（coated pits）处集中。衣被小窝是质膜向内凹陷的部位，凹陷处的质膜内表面附着有一层成笼蛋白（亦称网格蛋白）（clathrin）（图 4 - 55）。受体结合配体之后，受体分子变成了适合同衣被小窝结合的构型。由此可见，衣被小窝有筛选受体蛋白的功能。由于衣被小窝进一步内陷，掐断后形成衣被小泡（coated vesicles）（简称为 CL 泡），将配体物质包在泡内。由于成笼蛋白在小泡的外面所装配成的结构类似于笼子，故名。

成笼蛋白分子的构型比较特殊，呈三足鼎立（三脚架）状，具有 3 条腿，故称三腿子（triskelion：tri-，三；skeli，腿；-on，子）。三腿子是由 3 条大肽链和 3 条小肽链构成的复合物。在衣被小窝处，三腿子分子连接成网架，网架由六角形和五角形网格组成。三腿子分子网架具有自我装配的能力，体外实验表明，在试管中即便是无膜，三腿子分子也可自动地装配成封闭的笼子结构（图 4 - 56）。

集中有配体－受体复合物的衣被小窝继续向细胞内凹陷，最后被掐下来，形成了衣被小泡。质膜内陷可能是由成笼蛋白牵引所致。但是，成笼蛋白分子如何在质膜内表面的一定区域组装成网格，机制尚不清楚。衣被小泡一旦形成，成笼蛋白衣被随即脱去，分子返回到质膜下方，重又参与形成新的衣被小泡。

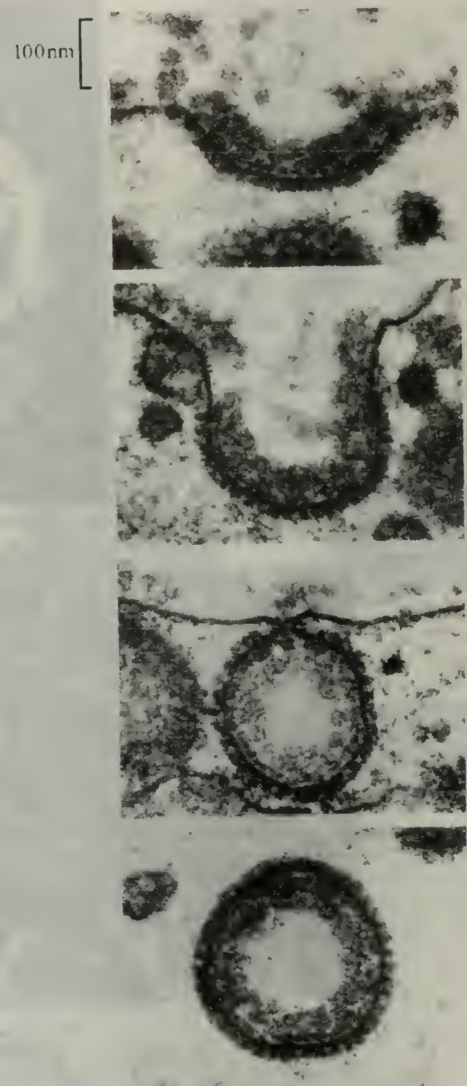


图 4－55　衣被小窝形成衣被小泡过程电镜图

2. 衔接蛋白的作用

衣被小泡的衣被组成成分中，除有成笼蛋白外，还有另一种蛋白质，即衔接蛋白(adaptin)。衔接蛋白具有与成笼蛋白基本相同的功能，参与衣被的形成。它介于成笼蛋白与配体受体复合物之间，起连接作用。它不同于成笼蛋白之处是，衔接蛋白存在有不同的种类，可分别结合不同类型的受体。跨膜受体蛋白的细胞质端有一个由 4 个氨基酸残基组成的序列 (Phe, Arg, X, Tyr)，此序列是发生内吞作用的信号，衔接蛋白对此序列有识别能力(图 4－57)。

3. 胆固醇的吸收

动物细胞对胆固醇的吸收是研究得比较清楚的一种受体介导内吞。胆固醇是构成膜的一种脂类成分，细胞通过受体介导内吞吸收所需的大部分胆固醇。血液中的胆固醇与蛋白质结合成颗粒，称为低密脂蛋白 (low-density lipoproteins, LDL) (图 4-58)。LDL 颗粒的质量为 3×10^6Da，芯部含有大约 1500 个胆固醇分子，这些胆固醇分子被酯化成长链脂肪酸。芯部周围由一脂单层包围，脂单层是由 800 个磷脂分子和 500 个未酯化的胆固醇分子所组成。这些脂分子被一个 50×10^5Da 的蛋白质分子组织成 LDL 颗粒，蛋白质分子同时也为 LDL 颗粒与 LDL 受体的结合提供了结合位点。

当细胞进行膜合成需要胆固醇时，细胞即合成 LDL 跨膜受体蛋白，并将其嵌插到质膜中。受体进入质膜后，则向衣被小窝集中。LDL 颗粒与受体结合，并随衣被小窝内陷，衣被小窝从质膜上掐下来，形成衣被小泡。进入细胞质的衣被小泡随即脱掉成笼蛋白衣被，而成为平滑小泡，继之小泡同早期内体(endosomes)融合，再经晚期内体将 LDL 送入溶酶体。在溶酶体中，LDL 颗粒中的胆固醇酯被水解成游离的胆固醇而被利用。细胞对胆固醇的利用具有调节能力，当细胞中的胆固醇积累过多时，细胞即停止

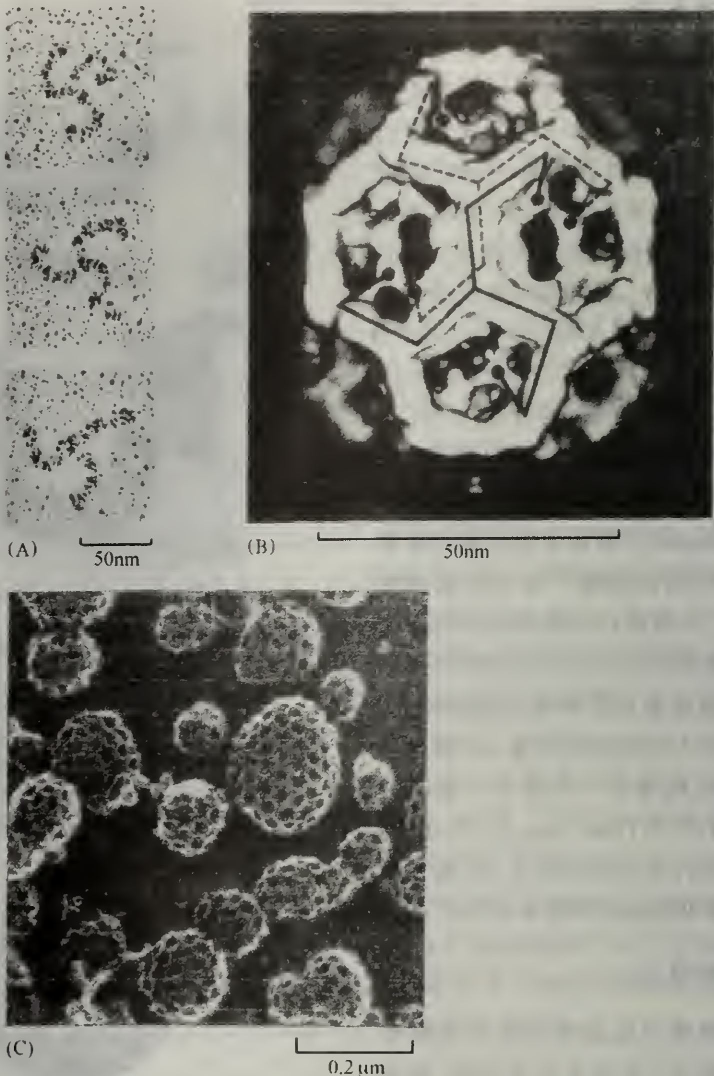


图 4－56　成笼蛋白分子结构和衣被小泡衣被的冰冻断裂电镜图
(A)成笼蛋白分子电镜图;(B)成笼蛋白分子示意图;(C)笼形衣被结构的冰冻断裂电镜图

合成自身的胆固醇，同时也关闭了合成 LDL 受体蛋白的合成途径，致使暂停吸收外来的胆固醇。有的人因为 LDL 受体蛋白编码的基因有遗传缺陷，造成血液中胆固醇含量过高，因而会过早地患动脉粥样硬化症 (atherosclerosis)，这种人往往因易患冠心病而早年英逝。

4. 运铁蛋白的内吞

运铁蛋白 (transferrin) 是血液中专司向细胞运铁功能的糖蛋白，相对分子质量约为 80 000，每一运铁蛋白分子可结合 2 个 Fe^{3+}。细胞表面有运铁蛋白的受体，也和 LDL 颗粒一样，运铁蛋白同其受体专一结合后，通过受体介导内吞将结合有铁的运铁蛋白送入早期内体中。内体中 pH 值低，在此条件下，引起运铁蛋白释放与之结合的铁。不结合铁的运铁蛋白称为脱铁运铁蛋白 (apotransferrin)，它仍以受体－脱铁运铁蛋白复

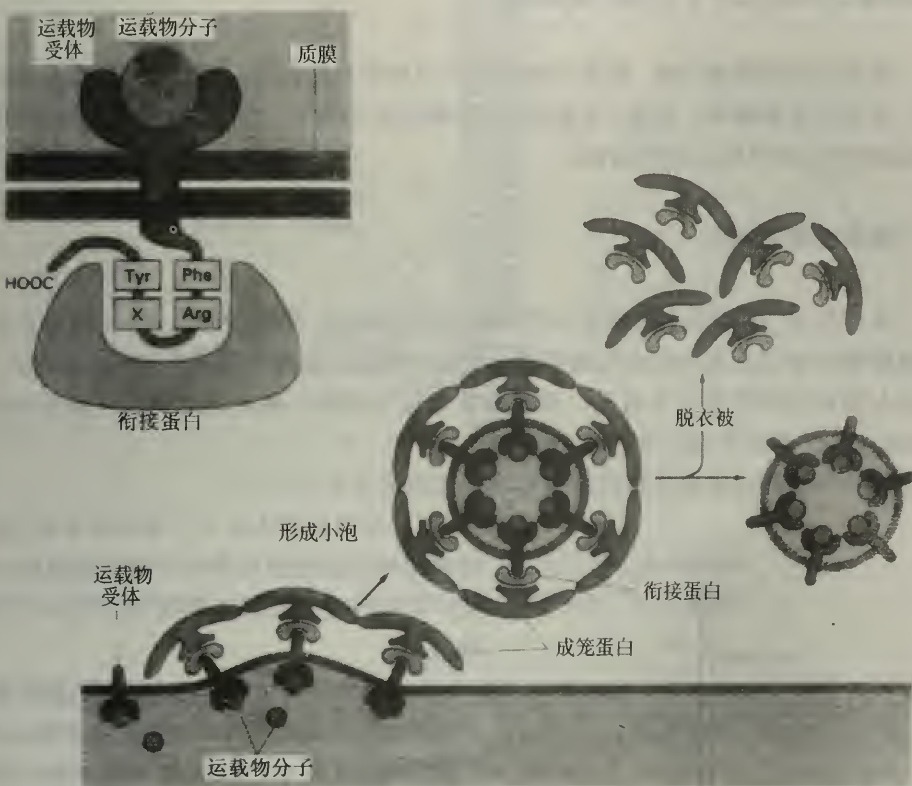


图 4-57 衔接蛋白对受体识别机制图解
图左上框内示衔接蛋白对受体蛋白四肽序列的识别

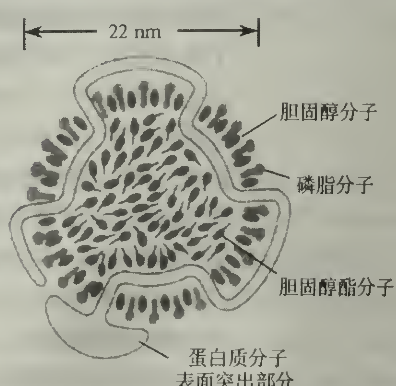


图 4-58 LDL 颗粒的分子结构图解

合物的形式返回质膜。细胞外液体处于中性 pH 值，于是脱铁运铁蛋白便脱离受体，参加新一轮的载铁运输。因此，运铁蛋白的作用是，在细胞外液体与内体之间来回穿梭运铁。

二、离子和小分子的穿膜运输

前面介绍的膜泡运输，物质转移的整个过程都有膜包围。因此，物质进入细胞的第一步并不直接穿膜。但是，有些物质，如离子和小分子，是以另一种方式进出细胞，即直接穿膜，而不经过内吞过程。

(一)物质穿膜的特点

我们知道，质膜是由脂双层分子和蛋白质构成的。如果时间允许，任何分子都可沿浓度梯度穿过无蛋白脂双层膜扩散。物质穿膜的性能称为通透性(permeability)，其大小与物质的性质和大小有关。表示物质通透性的量度称为通透系数 (permeability coefficients)，单位为 cm/s(图 4－59)。

影响物质穿过脂双层膜的通透性高低的因素有如下几个：

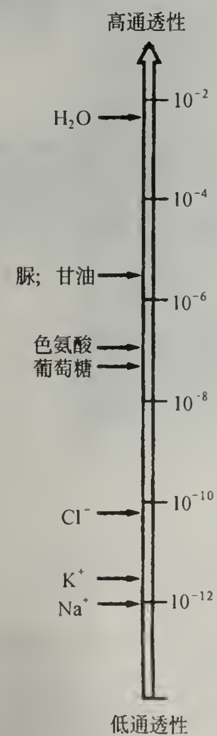


图 4－59　各类分子通过人工脂双层的通透系数

溶质穿过脂双层的速率与其在膜两侧的浓度成正比。通透系数(cm/s)乘以浓度差(mol/cm^3)得出每平方厘米膜每秒钟流过溶质的摩尔量。例如，色氨酸的浓度差为 $10^{-4}mol/cm^3$($10^{-4}/10^{-3}L = 0.1mol/L$)，则会引起穿过 $1cm^2$ 膜的流量为 $10^{-4}mol/cm^3 \times 10^{-7}cm/s$，或者是 6×10^4 分子/($s \cdot \mu m^2$)

(1)脂溶性越大的分子越容易穿膜。物质的脂溶性大小是由物质分子的结构属性所决定，非极性物质比极性物质更容易溶于脂类物质。

(2)小分子比大分子容易穿膜。脂溶性与分子大小相比，前者的影响要更大一些。小的非极性分子，如 O_2(32Da)和 CO_2(44Da)很容易溶于脂双层，因此穿膜扩散很快。

(3)不带电荷的分子容易穿膜。同样大小的物质分子，电解质的穿膜速度要比非电解质慢，强电解质要比弱电介质慢，这是由于：①离子难溶于脂类物质；②离子带有水膜，增大了有效体积。小的不带电荷的分子也能穿膜快速扩散，例如水(18Da)、乙醇(46Da)和尿素(60Da)都能快速穿膜。甘油(92Da)穿膜就比较慢，相对分子质量(*Mr*)大到 180Da 的葡萄糖分子几乎不能穿膜(图 4－60)。

(4) 亲水性分子和离子的穿膜要依赖于专一性的跨膜蛋白。

虽然水分子能快速穿过人工无蛋白脂双层膜，但是水可快速进出细胞还与膜上存在有水孔蛋白(aquaporin)通道有关。水孔蛋白通道广泛存在于动物、植物和细菌的质膜以及植物液泡膜上，它具有高度专一性，只允许水分子通过，而不允许其他分子或离子通过。水孔蛋白通道是由同源四聚体构成，每一单体都有独立的水通道功能。水孔蛋白通道

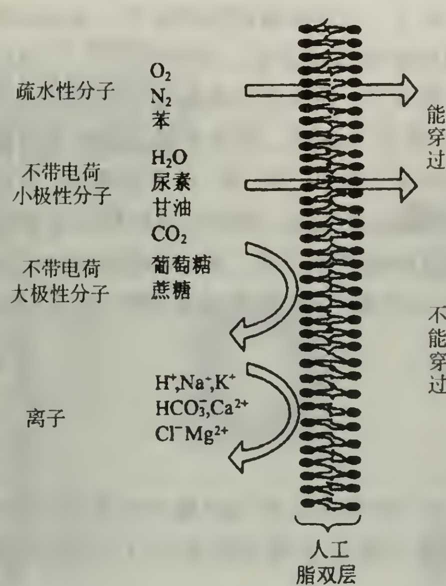


图 4-60　不同种类的分子穿过人工脂双层的相对通透性

分子越小越容易穿过;分子与水形成的氢键越少,其穿过脂双层的速率越快

与孔蛋白通道不同,后者是由一条肽链构成的通道,存在于细菌外膜以及线粒体外膜上,允许质量在600Da以下的水溶性溶质通过,而水孔蛋白通道只允许水分子通过。水孔蛋白通道的发现,揭示了水可快速穿膜流动的机制。

上述因素说明，物质的通透性是由物质本身的属性和膜的结构性质共同决定的。物质穿膜的通透性还要受细胞生理状态和环境条件的影响,如麻醉剂、热、辐射、pH值、盐不平衡等,均可改变膜的透性。例如,肌细胞处于活动状态时,营养物质更容易透过质膜。刺激也能使肌细胞和神经细胞的膜透性提高。

(二)物质穿膜运输的类型

物质穿膜运输可根据运输方向而分为被动运输（passive transport）和主动运输(active transport)两类。被动运输是指物质顺浓度梯度(concentration gradients),即顺电化学梯度（electrochemical gradients）穿膜运输，这一运输活动不消耗细胞本身的代谢能。所谓电化学梯度是由物质浓度梯度和电位梯度共同决定的。电位梯度即膜电位,质膜两侧有一定的电位差,它是由膜两侧的电荷造成的,一般是外正内负。因此,膜电位阻滞带负电荷的溶质进入细胞质,而促进带正电荷的离子和分子进入细胞。主动运输则是物质逆电化学梯度的穿膜运输,需要消耗细胞的代谢能,并要有专一的载体蛋白参与。被动运输又可因是否有运输蛋白的协助,而分为简单扩散和协助扩散两类。

参与物质穿膜运输的蛋白质称为运输蛋白（transport proteins），包括载体蛋白(carrier proteins)和通道蛋白(channel proteins)两类。

1. 简单扩散

简单扩散（simple diffusion）是最简单的一种物质运输方式，它不需消耗细胞的代

谢能，也不需要专一的载体分子，只要膜两侧物质保持一定的浓度差，即可发生这种物质运输。运输的速率与物质浓度差成正比。某种物质分子，通过简单扩散进入细胞后，如果被一定的代谢途径所利用，那么这种物质分子在外源充足的情况下，就可一直保持膜内外的浓度差，而不断进入细胞。简单扩散又称自由扩散。

有些疏水性的非极性小分子，如 O_2、N_2、苯、甾类激素等，即是以简单扩散的方式穿过膜的无蛋白质的脂双层区，进出细胞。简单扩散的物质穿膜运动符合于物理化学规律，扩散速率除依赖于浓度梯度大小以外，还同物质的油/水分配系数和分子大小有关。油/水分配系数越大，分子越小，则穿膜速率越快（表 4-8）。分子穿膜的通透性（P）可用下列公式表示：

$$P = \frac{KD}{t}$$

式中 K 为油/水分配系数，即一种溶质在油（脂）相与水相中的摩尔数之比；D 为扩散系数，即分子量的函数，物质分子越小，扩散系数越大；t 为膜的厚度。

表 4－8　物质油/水分配系数同期穿膜速率的关系（自 Collander，R.　1937）

物质名称	油/水分配系数（$\times 10^2$）	相对速率
甲醇	0.78	0.99
甘油乙醚	0.74	0.077
丙二醇	0.57	0.087
甘油甲醚	0.26	0.043
乙二醇	0.049	0.043
甘油	0.007	0.00074
赤藓糖醇	0.003	0.000046

带电荷的无机离子，不论多小，都不能穿过膜的无蛋白脂双层区。但是有些小的疏水性（脂溶性）分子，可介导离子以被动运输的方式顺电化学梯度穿膜，这类小分子称为离子载体（ionophores）。离子载体可分为两种，有的离子载体可将离子包围起来，以简单扩散的方式穿膜，这种小分子称为可动离子载体（mobile ion carrier），如缬氨霉素（valinomycin）；有的则可构成穿膜离子通道，允许单价阳离子顺电化学梯度穿孔而过，到达膜的另一侧，这种离子载体称为通道形成离子载体（channel-forming ionophore），如短杆菌肽 A（grammicidin A）即是某些细菌具有的阳离子（如 H^+、Na^+ 和 K^+）载体。缬氨霉素分子是由 L－乳酸、L－缬氨酸、D－羟异戊酸和 D－缬氨酸组成的环形聚合物，中央为一空腔，分子向中央伸出 6 个带负电荷的氧，恰好可将 K^+ 包在其中，分子的外表为疏水性的，因而可携带 K^+ 一起顺电化学梯度穿过脂双层。短杆菌肽 A 是由 15 个 D－和 L－氨基酸残基组成的通道形成载体，其氨基酸均带有疏水性侧链。通道是由 2 条短杆菌肽 A 多肽链褶叠成 β 螺旋构成，多肽链以氨基端相接。多肽链二体不稳定，总是处于不断形成和解体过程中。在电化学梯度较大的情况下，通道每开放一次（1ms）可运输 2×10^4 个阳离子，比可动离子载体分子的效率大 1000 倍。短杆菌肽 A 由某些细菌合成，可破坏其他细菌的 H^+、Na^+ 和 K^+ 浓度梯度，从而对其他细菌有杀灭作用，故它是一种有用的抗生素（图 4－61）。

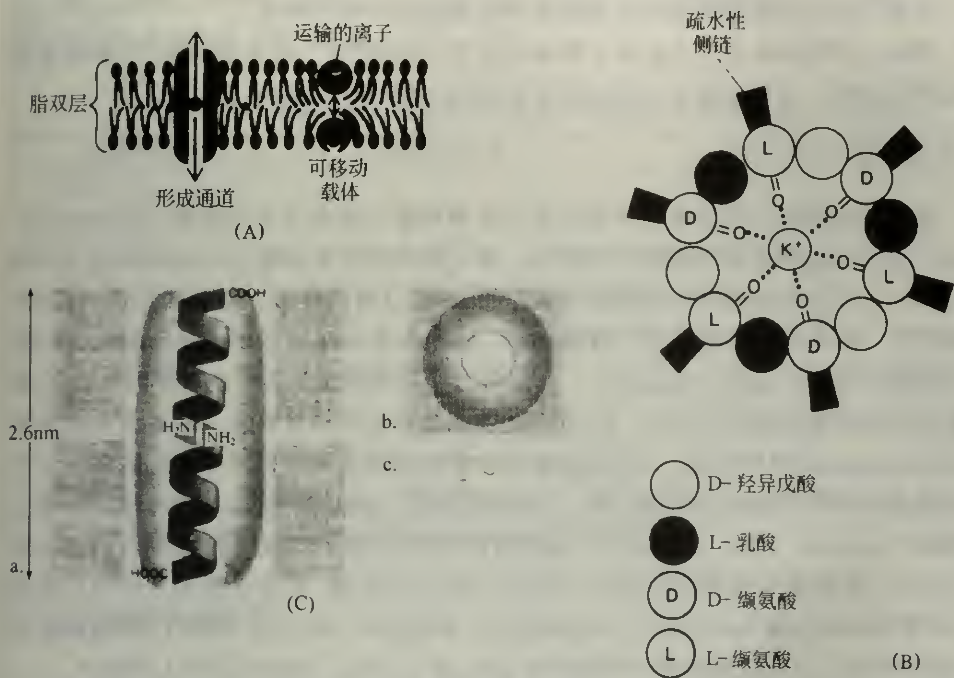


图 4－61　离子载体介导的离子被动运输

(A)两种不同离子载体对离子的不同运输方式;(B)缬氨霉素携带 K^+ 的结构形式;
(C) 短杆菌肽分子和它构成穿膜离子通道的结构形式: a. 两个相同的肽链以氨基端相接, 卷成 B 螺旋筒 (侧面观);b. B 螺旋筒顶面观,中央为通道;c. 未水化的 K^+ 的大小

2. 协助扩散

有些带电荷的极性物质, 虽然不能直接穿过脂双层, 但是质膜上有专一性的通道蛋白 (channel proteins), 其肽链经多次穿膜, 围成了充水小孔, 即离子通道 (ion channels),允许一定的离子通过,主要的离子有:Na^+、K^+、Ca^{2+}、Cl^-等。离子通道有两点不同于一般的亲水小孔: ①离子选择性。只允许一定大小和具有一定电荷的离子通过, 其他离子则不能通过, 因而推想通道具有一定的宽度, 裸露的离子擦壁而过, 离子在一定的浓度范围内, 其穿过通道的速率随浓度的增加而提高, 但浓度一旦超过一定高度, 则速率不再提高;②可控性。离子通道像关卡一样, 一般是不开放的, 只有在受到刺激时才开放, 并随即又关闭。因此, 实际上通道是一道离子门, 有专一刺激时, 门打开。可打开的离子通道有几种类型: 有对跨膜电压变化发生反应的, 称为电压门通道 (voltage-gated channel), 例如神经纤维电兴奋的传导 (见下文); 对机械应力发生反应的称为机械门通道(mechanically gated channel), 例如内耳听觉毛细胞上的不动纤毛即具有机械门通道, 当声音传至内耳时, 引起毛细胞下方的基膜发生振动, 从而使纤毛触及到上方的覆膜, 迫使纤毛发生倾斜。在这种机械压力的作用下, 引起纤毛离子门通道打开, 离子涌入细胞内, 膜电位改变, 信号经神经传出; 对配体结合发生反应的则称为配体门通道(ligand-gated channel), 例如在神经肌肉接点处, 肌膜上即具有递质门离子通道。当神经末梢释放出乙酰胆碱(神经递质)时, 递质与通道蛋白相互作用, 通道打开, Na^+, K^+, Ca^{2+}涌入细胞内, 肌膜去极化, 引起肌肉收缩(参见细胞骨架一章)。

各种门的开关受通道蛋白质磷酸化和去磷酸化作用的调节。

质膜上有些载体蛋白也起离子载体的作用，可将带有一定电荷的离子，顺电化学梯度进行运输。这种运输方式亦属协助运输，不消耗细胞代谢能。

3. 主动运输

离子和代谢物沿其逆电化学梯度进行穿膜运输，则称为主动运输（active transport）。主动运输需要消耗细胞的代谢能，故又称代谢关联运输（metabolically linked transport）。主动运输需要有跨膜载体蛋白的协助，这些载体蛋白起泵的作用，有选择性地把专一溶质逆浓度梯度进行穿膜运输。这种水解 ATP 驱动的主动运输称为初级主动运输（primary active transport）。载体蛋白所利用的细胞代谢能主要为 ATP 水解释放的化学键能或膜内外 Na^+、H^+浓度差造成的电化学梯度势能。后者为物质协同运输（cotransport）提供能量。协同运输是指一种物质的逆浓度梯度穿膜运输依赖于另一种溶质的顺浓度梯度的穿膜运输，二者协同进行，这种物质的主动运输称为次级主动运输（secondary active transport）。如果两种溶质的运输方向相同，则称为同向运输（symport），如细胞对葡萄糖的吸收，即是与 Na^+同向穿膜；前者运输的方向与后者相反，则称为反向运输（antiport），如红细胞执行清除组织中的 CO_2 功能时，即是在肺中释放出 HCO_3^-（CO_2 在组织液中的溶解度很低，多以 HCO_3^-的形式存在），而纳入 Cl^-，这种离子的对向运输即是依靠一种阴离子运输蛋白——带 3 蛋白来完成。

图 4-62 为上述物质运输方式的图解。几种运输方式的主要异同点概括于表 4-9 中。

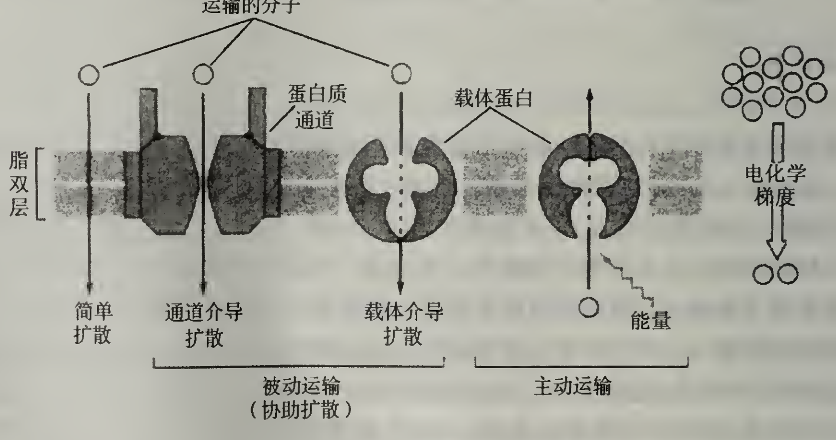


图 4－62　物质穿膜运输几种方式图解

被动运输包括物质直接穿过脂双层的简单扩散和依靠运输蛋白（通道蛋白和载体蛋白）协助的协助扩散；主动运输则是依赖穿膜的载体蛋白，逆浓度梯度进行穿膜运输

表 4－9　物质穿膜运输几种方式的主要异同点

运输方式	运输方向（电化学梯度）	载体	耗能方式
简单扩散	顺	－	电化学梯度势能
		（或通道蛋白）	
协助扩散	顺	+	电化学梯度势能
		（运输蛋白）	
主动运输	逆	+	细胞代谢能
		（载体蛋白）	

通过选择性的被动运输和主动运输的综合作用,造成细胞质溶质与细胞外间质之间的离子浓度有很大的差异(表 4 – 10)。

表 4 – 10　哺乳动物典型细胞的几种离子在细胞内外的浓度(mmol/L)差异*

离子种类	细胞内的浓度	细胞外间质中的浓度
阳离子		
Na^+	5 ~ 15	145
K^+	140	5
Mg^{2+}	0.5	1 ~ 2
Ca^{2+}	10^{-4}	1 ~ 2
H^+	7×10^{-5}	4×10^{-5}
	($10^{-7.2}$mol/L;pH 7.2)	($10^{-7.4}$mol/L;pH 7.4)
阴离子		
Cl^-	5 ~ 15	110
HCO_3^-	8	27
	(肌纤维)	(肌纤维)

*　细胞中的'+'电荷与'-'电荷的量应是对等的,本表中未全部列出。

(三)主动运输与运输泵

所谓泵(pump)即是指能驱动离子或小分子以主动运输的方式穿过生物膜的跨膜蛋白(transmembrane proteins)。能驱动离子穿膜的跨膜蛋白称为离子泵(ion pump)。离子泵蛋白具有 ATP 酶活性,也就是说它可利用水解 ATP 提供的能量进行物质穿膜运输。在质膜上存在的离子泵有 Na^+-K^+泵、Ca^{2+}泵和 H^+泵,其中前二者存在于真核细胞质膜中(线粒体和类囊体膜上有 H^+泵),而细菌质膜上存在的是 H^+泵(亦称质子泵)。关于离子泵在真核细胞中的分布可参见以后有关章节的介绍,此处只介绍存在于质膜上的 Na^+-K^+泵和钙泵。

1. Na^+-K^+泵

人们发现,有些离子在细胞内外的浓度差别很大,例如在细胞内 K^+的浓度很高,而 Na^+浓度很低;在质膜外则恰恰相反,Na^+浓度很高,而 K^+浓度低(表 4 – 11)。这种膜内外的离子浓度差是靠一种称为 Na^+-K^+泵的机制来维持的,Na^+和 K^+的运输相偶联,Na^+的排出和 K^+的进入细胞是协同进行的。

关于 Na^+-K^+泵的机制是 J. Skou 于 1957 年首先发现的。他发现,有一种酶在有

表 4 – 11　几种细胞与其间质的 Na^+ 和 K^+ 的浓度(mmol/L)

细胞种类	细胞内		细胞间质	
	Na^+	K^+	Na^+	K^+
人红细胞	11	91	138	4.2
大鼠红细胞	12	100	151	5.9
蛙肌纤维	16	127	106	2.6
大鼠肌纤维	8	160	147	7.3
轮藻(*Chara*)细胞液	66	65	460	10
法囊藻(*Valonia*)细胞液	35	578	460	10

Na^+、K^+、Mg^{2+}存在时，能把 ATP 水解成 ADP 和磷酸，与此同时，把 Na^+和 K^+以反浓度梯度的方向进行运输：

$$ATP + H_2O \xrightarrow[\text{酶}]{Na^+ \cdot K^+ \cdot Mg^{2+}} ADP + H_3PO_4$$

这种酶被称为 Na^+-K^+ATP 酶，因此所谓的 Na^+-K^+泵实际上即是 Na^+-K^+ATP 酶。Na^+-K^+泵存在于动植物细胞中，细菌细胞中无 Na^+-K^+泵，而代之以 H^+泵。Na^+-K^+ATP 酶分子为跨膜蛋白质，由 α、β 两个亚基构成。α 亚基为大亚基，具有 ATP 酶活性，相对分子质量约为 120 000，其细胞质端有 Na^+和 ATP 结合部位，其外端有 K^+和乌本苷(ouabain)结合部位。磷酸化和去磷酸化可引起分子发生构象交替变化，发挥泵的作用。β 亚基为糖蛋白亚基，作用尚不清楚，可能与维持酶活性有关。当把 α 亚基与 β 亚基分开时，α 亚基的酶活性即丧失。

Na^+-K^+ATP 酶在质膜内外可分别为 Na^+与 K^+所激活，催化 ATP 水解，为 Na^+运出膜外和 K^+运进膜内的运输过程提供能量。在有 Na^+存在的条件下，ATP 分子末端的磷酸基被转交给了 ATP 酶。ATP 酶的磷酸化引起了酶分子构象的变化，从而把 Na^+运出膜外。随之，在有 K^+存在时，ATP 酶又脱磷酸化，酶分子恢复到原来的构象，与此同时把 K^+运进膜内。利用血影测得，每水解 1 个 ATP 分子即可将 3 个 Na^+抽出细胞，将 2 个 K^+抽进细胞(图 4－63；4－64)。

在各种细胞中，每水解 1 个 ATP 分子穿膜运输 Na^+、K^+的比例有所不同，由 1∶1 到 3∶1 不等。由于 Na^+-K^+泵的不断工作，而使膜两侧的 Na^+、K^+各保持一定的浓度，Na^+的浓度细胞外高于细胞内，K^+则细胞内高于细胞外。Na^+、K^+的不对等运输，造成了膜内外的电化学梯度，因此 Na^+-K^+泵也是致电泵。Na^+-K^+泵在神经细胞和肌肉细胞中特别活跃。这种泵对强心苷(cardiac glycoside)类化合物特别敏感，其外端可同乌本苷或毛地黄苷(digitalis)结合，导致酶活性受到抑制。Na^+-K^+ATP 酶受到抑制时，失去维持离子的生理浓度的功能，从而引起细胞膨胀，甚至破裂。

Na^+-K^+泵对离子的运输属于反浓度梯度的主动运输，需要消耗细胞的能量，能量的直接来源是 ATP。细胞内约有 1/3 的 ATP 是用来维持这种离子浓度梯度的。这种状况的维持有着重要的生理意义。其主要作用如下：

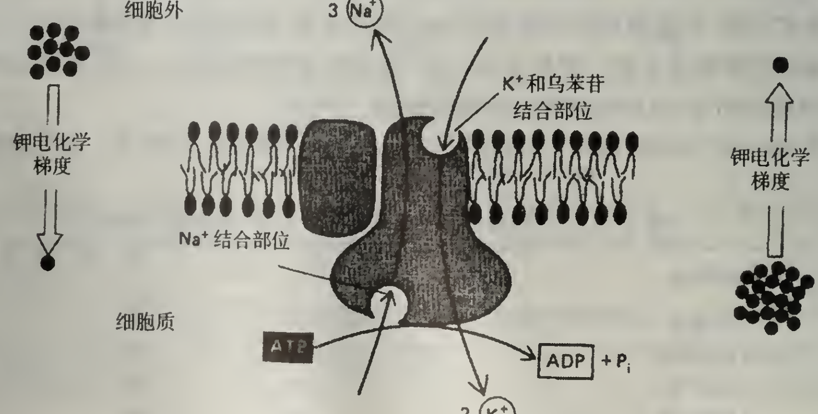


图 4－63　Na^+-K^+泵工作原理示意图

载体蛋白(Na^+-K^+ATP 酶)通过主动运输、逆电化学梯度运输，

每水解一个 ATP 分子可将 3 个 Na^+抽出细胞外，而把 2 个 K^+运进细胞内

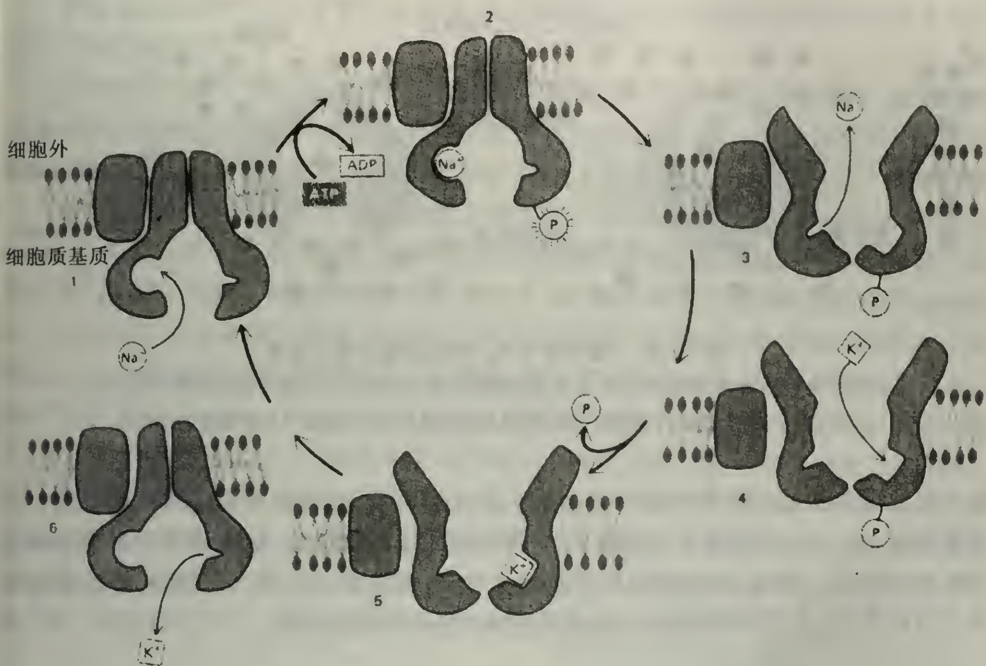


图 4－64 Na^+-K^+泵偶联运输 Na^+、K^+过程示意图

（1）调节渗透压。等渗生理盐液为 55mol/L H_2O 和 0.154mol/L 盐，因而每运输 10.15mol 的 Na^+就会引起 55g 水分子随之流出。也就是说，每运输一个钠离子，就要伴随运输 360 个水分子，因此 Na^+浓度有调节水的流向的作用。例如，肾中的水含量要受由 Na^+-K^+泵造成的 Na^+浓度的调控。离子泵维持着膜两侧的电化学梯度，从而能调节水的流向。

（2）物质吸收。细胞对营养物的吸收需要消耗能量，有些物质的吸收所需要的能量即是由 Na^+浓度差提供的。细胞外的 Na^+浓度高于细胞内，从表 4－10 和 4－11 可以看出，大约相差达十几倍，因此 Na^+保持着由细胞外向细胞内扩散的势能，细胞即利用这种势能来运输营养物质。例如，葡萄糖和某些氨基酸即是通过这种方式被运进细胞，在运输过程中，这些物质的运输蛋白同 Na^+耦合，将 Na^+和被运输的物质共同运进细胞内。虽然营养物质在细胞外的浓度很低，但通过这种偶联运输，也能被吸收利用（协同运输）。小肠上皮细胞即是利用这种机制来吸收葡萄糖等养料。当 Na^+进入细胞内被释放后，运输蛋白随即发生构象变化，失去了与葡萄糖的亲和力，葡萄糖也随即被释放到细胞内。进入细胞内的 Na^+又可通过 Na^+-K^+泵被抽出细胞（图 4－65）。

（3）细胞正常代谢的必要条件。K^+在细胞内的浓度大大高于细胞外，胞内高浓度的 K^+是核糖体合成蛋白质和糖酵解过程中一些重要酶保持活性的必要条件，也是细胞保持一定渗透压的基本因素。

（4）保持膜电位。用微电极可以测出，各种细胞的质膜内外均具有一定的电位差，即膜电位（membrane potential）。膜电位是由膜两侧离子浓度不同造成的。细胞在静息状态时，细胞内的电位与外部间质相比为负值，各种细胞的膜电位差不同，约由 －20mV 至 －100mV，神经细胞为 －60mV，肌肉细胞为 －90mV，这一电位差称为静息电位（resting potential）。静息电位主要是由两个因素决定的：一是由于离子顺浓度梯度

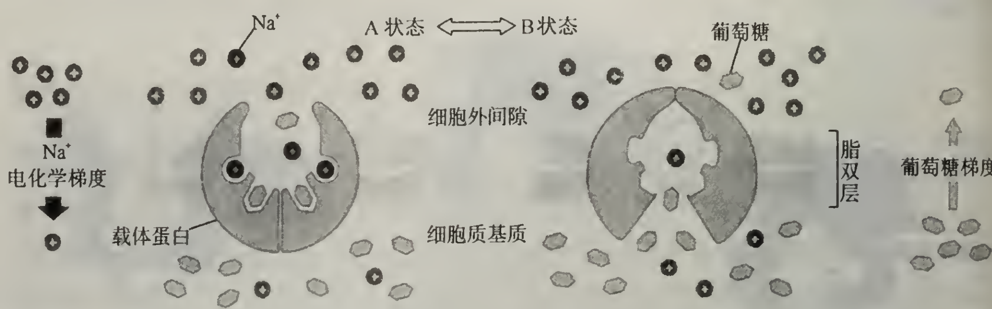


图 4－65　葡萄糖与 Na^+ 协同运输过程示意图

泵在两种状态(A 和 B)间振动，A 和 B 分别向细胞外和内开放，Na^+ 和葡萄糖只有同时存在时，才能与载体结合。Na^+ 与载体结合后，使载体构象发生变化，提高了与葡萄糖的亲和力

差的差渗现象造成的扩散电位(diffusion potential)；另一是由致电泵造成的电位差。大多数细胞，Na^+-K^+泵造成了 Na^+ 和 K^+ 在膜内外的反向浓度差，这两种离子对膜的渗透常数差别很大。例如，枪乌贼的轴突膜对 K^+ 的渗透性要比对 Na^+ 大得多，蛙的肌细胞甚至可相差 73 倍，因而静息电位主要是由 K^+ 的通透性决定的。

$$\Delta\psi_d = \frac{RT}{F}\ln\frac{[K^+]}{[K^+]}$$

$\Delta\psi_d$ 为扩散电位；R 为气体常数 (8.316J/mol)；T 为绝对温度；F 为法拉第常数(96 500C(库仑))。

膜对 K^+ 的通透性之所以比 Na^+ 高，是因离子发生水化造成的。离子体积的大小由电子云的大小来决定，因而 K^+ 大于 Na^+(表 4－12)。水分子为偶极子，可被任何性质的电荷所吸引，在离子周围形成一水化层。细胞内有很大一部分水分是以这种结合水的形式存在。离子的静电引力与到原子核距离的平方成反比，因而体积小的 Na^+ 要比 K^+ 吸引更多的水分子，结果造成水化后的 Na^+ 体积反而比水化的 K^+ 大（图 4-66)。水化离子体积增大影响了对膜的通透能力。许多细胞的静息电位数值与扩散电位近似。由此可见，建立 Donnan 平衡的电化学扩散（被动运输）和离子需能运输是产生膜电位的决定因素。

表 4－12　水化对离子体积的影响

状　　态	Li^+	Na^+	K^+
晶格中未水化的离子直径(nm)	0.16	0.2	0.23
晶格中水化后的离子直径(nm)	0.73	0.56	0.38
$\left[\frac{水化体积}{未水化体积}\right]$	95	22	4.5

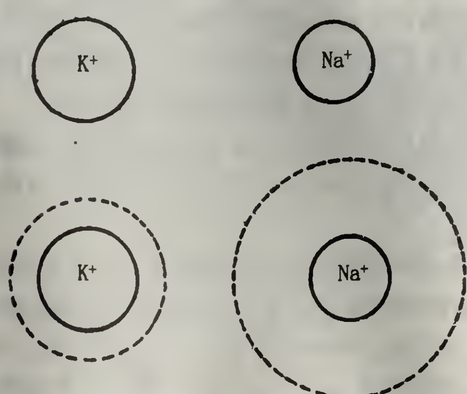


图 4－66　水化对离子体积的影响，水化后的 Na^+ 积体要比 K^+ 大

静息电位的保持有很重要的生理意义，特别是在神经和肌肉细胞冲动传导方面起着关键性的作用。

1)神经信号传导与动作电位。当神经元受到超过一定阈值的电刺激时，就要激起电兴奋波，沿神经元质膜传播的电兴奋波称为动作电位（action potential）或神经冲动(nerve impulse)。动作电位的传播速度很快，可达100m/s以上。

动作电位的产生与兴奋细胞质膜上的电压门阳离子通道（voltage-gated cation channel)有关。凡是兴奋细胞(包括神经元、肌细胞、内分泌细胞和卵细胞)，质膜上都有电压门通道。迄今，在各种细胞中已发现了100多种离子通道，而且还在不断的发现。动作电位是由质膜去极化(depolarization)引起的，所谓的去极化即是指膜电位的负值变小。神经细胞或骨骼肌细胞受到刺激，使局部质膜去极化，结果引起电压门 Na^+ 通道打开，允许少量 Na^+ 顺电化学梯度进入细胞内。阳离子的涌入，又进一步引起去极化，使更多的 Na^+ 通道打开，致使大量 Na^+ 涌入。因而去极化是一个自我放大的过程，这一过程一直要进行到膜电位从静息电位(约 -70mV)达到 Na^+ 平衡电位(约 +50mV)为止。Na^+ 通道因具有自动失活机制，而可迅速关闭(图4-67)。局部质膜的自我放大去极化变化可引起邻近膜区亦发生去极化，从而使后者也发生同样的去极化过程，如此循环不已，去极化波即从起始部位传遍整个质膜。

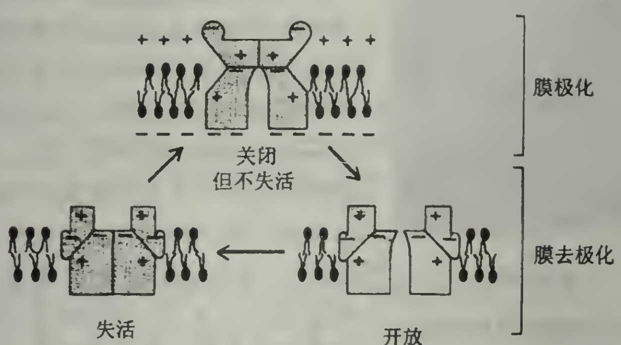


图4-67 电压门 Na^+ 通道的开放与关闭循环图解
示3种构象的变化，膜极化时通道关闭，去极化时开放

在 Na^+ 通道关闭时，质膜上的另一种离子通道——电压门 K^+ 通道打开，从而使 Na^+ 的瞬间涌入效应被 K^+ 的流出所抵消，质膜迅即恢复到原来的静息电位。

2) 神经传导与递质门离子通道。神经元轴突末梢与下一个神经元接点处形成了突触(synapses)结构，神经冲动不能直接穿越突触传递。突触中介有化学传递过程，传递的化学物质为乙酰胆碱(acetylcholine)，称为神经递质(neurotransmitter)。在突触处，神经末梢与另一神经元的本体之间有一裂缝，称为突触裂(synaptic cleft)。突触前神经末梢中有含有乙酰胆碱的神经递质小泡，当动作电位传到神经末梢时，激起小泡与质膜融合，通过外排作用将乙酰胆碱释放到突触裂中。突触后细胞的突触区质膜集中有递质门离子通道(transmitter-gated ion channels)，通道具有将化学信号转变为电信号的功能，它能使突触后膜的通透性发生改变，从而引起膜电位改变，将冲动传递下去。而神经递质的作用是引起通道打开，允许 Na^+ 进入突触后细胞，使突触后膜去极化。由此可见，递质门离子通道有两种主要的作用，一是作为神经递质的受体，与递质结合后发生构象变化，打开离子通道；另一个作用是作为阳离子通道，允许离子经通道进入

细胞，引起质膜去极化。因此可以说，化学突触是神经冲动长距离传递途径中在神经元之间的中继站(relay station)。

递质门通道具有两种属性：①其递质结合部位对突触前神经末梢释放出的神经递质具有高度选择性；②作为通道对允许通过的离子具有选择性。对于兴奋性神经递质，如乙酰胆碱、谷氨酸和 5－羟色胺(serotonin)，可引起阳离子通道开放，Na^+涌入突触后神经细胞，突触后膜去极化，激起动作电位。反之，抑制性神经递质，如 γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid)(GABA)和甘氨酸，则引起 Cl^-通道开放，使突触后膜保持极化状态，不激起动作电位。Cl^-在细胞外的浓度大大高于细胞内，因此 Cl^-通道一旦开放，便会有大量的 Cl^-涌入细胞，使膜电位更加低于去极化水平。

神经系统中的化学信号传递并不都通过配体门离子通道 (ligand-gated ion channels) 发挥作用。神经末梢分泌的某些信号分子，如神经肽(neuropeptides)即是先结合到可调节离子通道的受体上，即 G 蛋白关联受体和酶关联受体。神经递质与递质门受体结合，作用迅速简捷；与 G 蛋白关联受体和酶关联受体结合，作用缓慢持久，更加复杂。神经细胞上的阿片受体即属于 G 蛋白关联受体。阿片是一种有效的止痛剂，但慢性长期服用，会产生耐药性和依赖性，其作用机制尚有待研究。

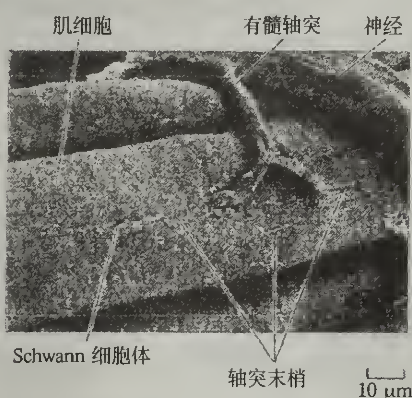


图 4－68　蛙的神经肌肉接点处的低倍扫描电镜图

3)神经肌肉接点的冲动传递。最后一级神经元的轴突末梢与效应器接触，运动神经元是与肌肉接触。神经末梢与肌肉间形成了一种特殊的接触结构，称为神经肌肉接点(neuromuscular junction)(图 4－68)。神经肌肉接点也是一种化学突触，与神经元间的化学突触一样，突触后膜(在此处为骨骼肌细胞质膜)上有乙酰胆碱受体。受体是由 5 条肽链组成(2α、β、γ、δ)，其中两条 α 链相同。这 5 条肽链在质膜中排列成环状，中央为一含水的穿膜通道(图 4－69)。通道的两端具有带

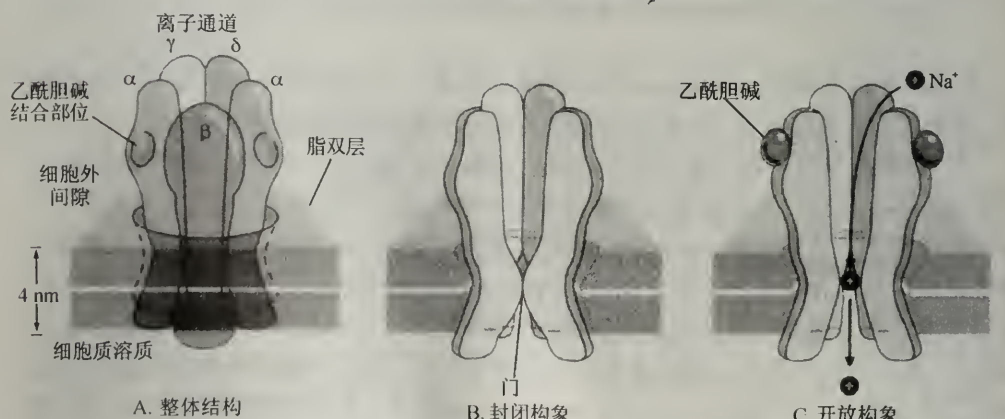


图 4－69　肌膜乙酰胆碱受体离子通道结构和功能变化示意图

5 个穿膜蛋白质亚单位围成一条跨脂双层的水通道。每一亚单位均为一穿膜 α 螺旋(A)。通道两端暴露有带负电荷氨基酸的侧链，因此通道只允许带正电荷的离子通过，如 Na^+和 K^+离子。通道亚单位可发生构象变化。处于封闭状态时，亚单位的一定部位的疏水性氨基酸侧链封堵了水孔，此部位称为门(B)。当神经释放出的乙酰胆碱结合到亚单位上时蛋白质发生构象变化，疏水性侧链移开，门打开，Na^+和 K^+离子得以顺电化学梯度经通道穿膜(自 Alberts, B. et al. 1998)

负电荷的氨基酸群，因而排斥负离子入内，而吸引正离子通过。通道对正离子的选择性不强，只要直径小于 0.6nm 的正离子都可通过，包括 Na^+、K^+ 和 Ca^{2+} 等。

2 条 α 链的外端具有乙酰胆碱结合部位，当五聚体复合物通道结合上 2 个乙酰胆碱分子时，即要发生构象变化，通道打开（图 4－70）。因此，实质上这种通道也是一种递质门阳离子通道（transmitter-gated cation channels）。通道开放仅持续 1 毫秒即关闭。随后，乙酰胆碱与受体分离，并被接点处的乙酰胆碱酯酶所水解。通道开放时，阳离子（主要是 Na^+）涌入肌细胞内，造成肌细胞质膜去极化，进一步引起肌细胞收缩过程（详见细胞骨架一章）。

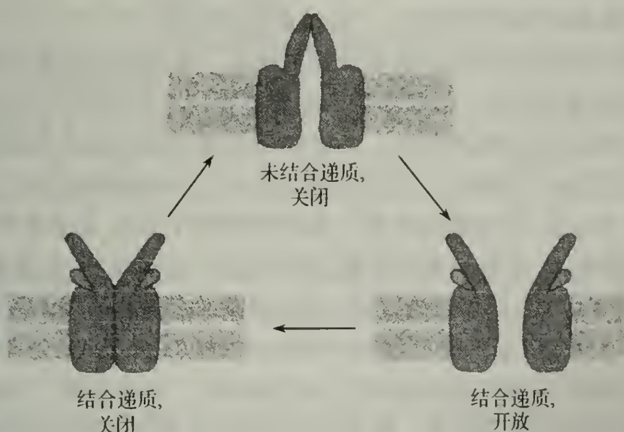


图 4－70　乙酰胆碱受体的三种构象变化图解

2 个乙酰胆碱分子与受体结合、打开通道，开放时间短暂，随即关闭，乙酰胆碱分子脱离受体，受体重又恢复原来的构象

2. 钙泵

在真核细胞中，细胞质溶质中的游离 Ca^{2+} 的浓度很低，约为 10^{-7}mol/L，而细胞外的 Ca^{2+} 浓度却很高，约为 10^{-3}mol/L，这一显著差异形成了膜由外到内的高陡度的 Ca^{2+} 浓度梯度。这一浓度梯度的维持对细胞的生理活动有很重要的意义。细胞外信号只要引起少量的 Ca^{2+} 进入细胞，即可使细胞质溶质中的游离 Ca^{2+} 浓度显著提高（$\sim 5\times10^{-6}$mol/L。细胞局部 Ca^{2+} 浓度的提高可激活某些 Ca^{2+} 反应蛋白质，如钙调蛋白（calmodulin）、肌钙蛋白等。Ca^{2+} 不仅参与引起肌肉收缩活动，而且还在许多细胞反应中起细胞内信使的作用。因此，Ca^{2+} 在细胞质溶质中维持低浓度，是为进行许多生理活动的必要戒备状态。

维持细胞质溶质中的 Ca^{2+} 低浓度，要靠一种称为 Ca^{2+} 泵的 Ca^{2+}－ATP 酶（Ca^{2+} ATPase）。Ca^{2+} 泵在结构和功能上与 Na^+-K^+ 泵类似，它们是同一类蛋白质。然而，二者的大亚基都各具有多种异构型（isoforms）。Ca^{2+} 泵也是通过磷酸化与去磷酸化进行泵吸活动循环。

提　　要

质膜是生物体所有细胞在细胞质外缘所具有的脂双层膜，其组成成分除脂类物质外，尚有蛋白质。膜脂包括有磷脂、胆固醇和糖脂。膜中有许多蛋白质与脂双层相结合，质膜中有些是糖蛋白。有的膜蛋白嵌插在脂双层中，称为整合蛋白；有的膜蛋白则附着

在膜表面上，称为周边蛋白。脂类和蛋白质通过疏水和亲水作用力而稳定地结合在一起。膜的脂双分子层中，两层脂单层的脂类和蛋白质组成不一样，形成了膜的不对称性。脂类和蛋白质在膜中均可侧向移动。膜蛋白的运动性要受周围膜脂的限制，也要受细胞骨架的制约，还有其他膜蛋白的影响。膜脂的流动性与脂分子的性质有关，各种脂类均有一定的相变温度。相变温度的高低由脂分子烃链的饱和程度和长度来决定。在相变温度以上，脂分子有旋转、摆动、侧移、倒翻和构象转变等运动。在一定条件下，膜脂可发生液态与液晶态（固态）的相互转变，从而使脂双层的流动性发生改变。

由脂类和蛋白质镶嵌构成的生物膜，其横切面在电镜下呈两暗夹一明的三层式结构，学术界把具有这种结构形式的一层膜称为单位膜。

质膜是细胞与周围环境进行物质交换的通路。物质进出细胞的运输可分为批量膜泡运输和穿膜运输两大类。细胞的膜泡运输包括内吞和外排。内吞作用又根据吞入的物质形态不同而分为吞噬和胞饮。内吞作用是通过胞外物质与细胞表面受体结合引起的，故称为受体介导内吞。内吞小泡的形成与质膜细胞质面结合的成笼蛋白有关。内吞小泡形成以后，成笼蛋白脱离小泡回到质膜内表面，重新被利用。内吞小泡经过和内体、溶酶体融合，内吞物质被消化，部分小泡又返回质膜，此谓膜的再循环。

在穿膜运输中，物质要穿过脂双层，物质穿膜的透性和物质本身的性质以及膜运输蛋白有关。一般说来，脂溶性大的、分子体积小的、不带电荷的分子更容易穿膜。物质穿越质膜的运输可分为被动运输和主动运输两类。被动运输又因是否有载体协助而分为简单扩散和协助扩散两种。物质穿膜的被动扩散均不消耗细胞的代谢能量，而是利用物质在膜两侧的浓度差势能，顺浓度梯度扩散。物质穿膜的主动运输是反浓度梯度运输，需要细胞提供代谢能，并要求有载体蛋白参加。Na^+和K^+的穿膜运输即为主动运输。Na^+-K^+ATP酶利用水解ATP提供的能量将Na^+运出细胞，将K^+运进细胞。存在于质膜上的Na^+-K^+ATP酶又称为Na^+-K^+泵。由于泵的活动，造成离子在膜两侧的浓度不同，使膜两侧保持了一定的电位差，即膜电位。膜电位是细胞传导兴奋的基础。Na^+在膜两侧的浓度差可被用来进行某些物质（如葡萄糖）的偶联穿膜运输。

多细胞生物相邻细胞间或细胞与细胞外基质间质膜上分化出连接结构。连接结构按功能可分为封闭连接、锚定连接和通讯连接三类。其中，通讯连接在细胞间信号传递方面具有重要意义。动物细胞的通讯连接是间隙连接，分布于上皮组织和心肌中；植物细胞中的称为胞间连丝，但在结构上不同于间隙连接。通讯连接允许分子量为800～1000的小分子穿过。间隙连接通透性的大小受Ca^{2+}的调节，胞内Ca^{2+}浓度的提高可引起通透性降低，甚至完全关闭。

细胞外被是由构成质膜的糖蛋白和糖脂向细胞表面伸出的寡糖链所组成，又称糖萼。寡糖链的糖基排列有一定的顺序，它在细胞识别和配体与受体结合方面具有重要作用。有些细胞的表面抗原的性质也是由特定的寡糖链所决定的，如血型抗原、组织相适性抗原等。

动物细胞和植物的游离细胞，表面上形成一些特化结构，如微绒毛、纤毛、褶皱、圆泡、内褶等。这些结构各有不同的功能，纤毛是运动细胞器（不动纤毛除外）；微绒毛和内褶扩大了细胞表面积，有利于进行细胞内外物质交换。

复习思考题

1. 膜的流动镶嵌模型是怎样形成的？它在膜生物学研究中有什么开创意义？
2. 质膜在细胞生命活动中都有哪些重要作用？
3. 质膜的膜蛋白都有哪些类别？各有何功能？膜脂有哪几种？
4. 物质穿膜运输有哪几种方式？比较它们的异同点。
5. 细胞通过什么途径吸收低密脂蛋白(LDL)？
6. 质膜在细胞吞排作用(cytosis)中起什么作用？
7. 以 Na^+-K^+泵为例说明“泵”机制在物质穿膜运输中的作用原理。
8. 何谓细胞外被？它有哪些功能？
9. 细胞连接都有哪些类型？各有何结构特点？

主要参考文献

黄　芬,1997. 细胞质膜微囊与信号转导．生物化学与生物物理进展,24(3):194～198

汪堃仁,薛绍白,柳惠图主编,1998. 细胞生物学,北京:北京师范大学出版社．52～109

张春雨,段恩奎,曾国庆等,1997. 细胞表面半乳糖基转移酶及其生物学功能．生物化学与生物物理进展,24(6):518～520

朱美君,王学臣,陈　珈等,1998. 水通道蛋白研究动态．生物化学与生物物理进展,25(6):508～512

Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., *et al.*, 1998. Essential Cell Biology — An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc., New York & London. 347～406

Burridge, K. *et al.*, 1983. A New Protein of Adhesion Plaques and Ruffling Memrane. J. Cell Biol., 97: 359～367

Citi, S., 1993. The Molecular Organization of Tight Junctions. J. Cell Biol. 121(3): 485～489

Fujimoto, T., 1993. Calcium Pump of the Plasma Membrane Is Localized in Caveolae. J. Cell Biol. 120: 1147～1157

Jonas, C., Bischorfberger, J., Sandkühler, J. *et al.*, 1998. Corelease of Two Fast Neurotransmitters at a Central Synapse. Science, 281: 419～424

Lee, M., Van Brocklym, J. R., Thangada, S. *et al.*, 1998. Sphingosine-1-Phosphate as a ligand for the G Protein-coupled Receptor EDG-1. Science, 279: 1552～1555

Rosenmund, C., Stern-Bach, Y., Stevens, C. F. *et al.*, 1998. The Tetrmeric Structure of a Glutamate Receptor Channel. Science, 280: 1596～1599

第五章

细胞外基质

多细胞生物体中，细胞大都以组成组织的形式存在。组织中除了细胞成分外，在细胞之间尚存在有非细胞性的细胞间物质，它们是由一些蛋白质和多糖大分子构成的精密有序的结构网络。这些存在于细胞间的大分子结构称为细胞外基质（extracellular matrix）。细胞外基质在多细胞生物中普遍存在，它不同于细胞外被之处是，它是通过与细胞质膜中的细胞外基质受体结合，同细胞建立了相互关系，而细胞外被是由质膜中的糖蛋白和糖脂伸出的糖链组成的质膜表面结构。实际上细胞外基质是细胞的分泌物在细胞附近构成的精密结构。

在动物组织中，细胞外基质的含量因组织种类不同而异，结缔组织中含量很大，而上皮组织则很少。细胞外基质不单纯是生物体的支持和连接结构，它的功能是多种多样的。它对细胞行为的影响是多方面的，如对细胞的分化、增殖、形状、迁移和功能活动都有重要的影响。

植物体的组织结构与动物差别很大，它不具有像动物组织那样的细胞外基质，但植物细胞的细胞壁相当于植物体中的细胞外基质。下面主要以动物的细胞外基质进行介绍。

第一节　细胞外基质的化学

动物体包括有四大组织，即上皮组织、结缔组织、肌肉组织和神经组织，其中以结缔组织中的细胞外基质最为发达。结缔组织的结构形式多种多样，有若干种类，如疏松结缔组织（图 5－1）、骨、软骨和血液等。它们都含有大量的细胞外基质，而且在体积

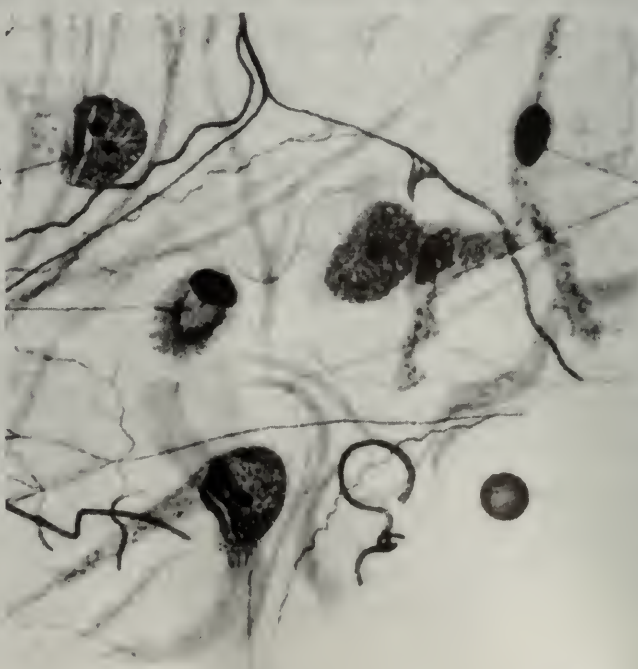


图 5－1　人体大腿轻度水肿的疏松结缔组织切面光镜图像
图中红细胞作比例标尺（7μm）

比例上细胞外基质的体积要大于细胞所占的体积。

动物各种组织中的细胞外基质虽然在量和形态上都各不相同，但在结构组成上基本都是由凝胶样基质(gel-like ground substance)和纤维蛋白所组成。有的纤维蛋白形成纤维，起结构作用，增强组织张力；有的则起黏结作用。基质中的多糖凝胶则使细胞外基质具有抵抗压力的作用。细胞外基质凝胶中的纤维呈网状结构，因而各种养料、代谢产物和激素等物质可穿越网孔迅速扩散，便于在血液与组织之间进行交换。

细胞外基质主要是由凝胶基质和纤维网架所构成。在生化性质上前者为多糖，包括有氨基聚糖和蛋白聚糖；后者为纤维蛋白。在功能上，纤维蛋白可分为两种，起结构作用的有胶原(collagen)蛋白和弹性蛋白(elastin)；起黏着作用的为非胶原(noncollagen)糖蛋白，如纤连蛋白(fibronectin)和层黏连蛋白(laminin)。

在结缔组织中，细胞外基质大分子是由成纤维细胞(fibroblasts)所分泌。成纤维细胞在不同组织中有不同的名称，如软骨中的成软骨细胞(chondroblasts)、骨中的成骨细胞(osteoblasts)。结缔组织发育成熟后，其细胞和纤维成分都埋藏在由多糖类物质构成的凝胶基质中。

因此细胞外基质(EM)成分可表示如下：

- 细胞外基质
  - 多糖：糖胺聚糖、蛋白聚糖
  - 纤维蛋白
    - 结构作用：胶原、弹性蛋白
    - 黏合作用：纤连蛋白、层黏连蛋白

一、多糖的分子结构

(一)糖胺聚糖

构成细胞外基质的多糖具有一个重要特征是，糖链是由二糖单元重复连接而成，且不分支。二糖单元中，有一个糖残基必定是氨基糖，即N-乙酰葡糖胺(N-acetylglucosamine)或N-乙酰半乳糖胺(acetylgalactosamine)。氨基糖大都硫酸化。二糖单元的另一个糖残基多为糖醛酸(uronic acid)，即葡糖醛酸(glucuronic acid)或艾杜糖醛酸(iduronic acid)。由于二糖单元中有一个单糖为氨基糖，因此由二糖单元聚合而成的多糖称为糖胺聚糖(glycosaminoglycan，GAG)。过去，GAG曾称为黏多糖(mucopolysaccharides)。另外，因糖残基上带有羧基或硫酸基，故GAG呈强负电性(图5-2)。

根据糖残基的性质、连接方式和硫酸基的数量和存在部位，可将糖胺聚糖(GAG)分为四类：①透明质酸(hyaluronic acid)；②硫酸软骨素(chondroitin sulfate)和硫酸皮肤素(dermatan sulfate)；③硫酸类肝素(heparan sulfate)和肝素(heparin)；④硫酸角质素(keratan sulfate)(表5-1)。多糖链不能折屈，形不成球形结构，成充分展开构象。而且GAG具有高度亲水性，故浓度很低即可形成凝胶。此外，糖链带有大量负电荷，可吸引许多阳离子(如Na^+)，从而对渗透压具有很大的影响，可将大量水分吸收到基质中。正由于GAG具有这些特性，故基质具有高膨胀压，可耐受很强的压力，例如膝关节处

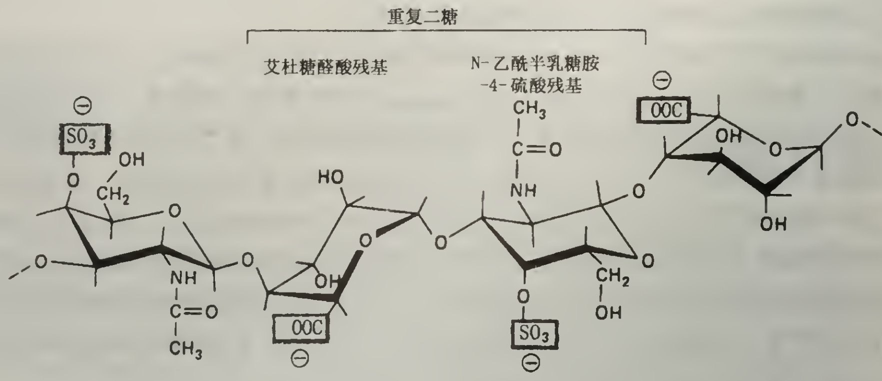


图 5-2　硫酸皮肤素(dermatan sulfate)GAG 链的二糖重复序列

链长 70~200 个糖残基,由于沿糖链带有硫酸基和羧基故显强负电性

表 5-1　几种主要的糖胺聚糖及其二糖重复单元

糖胺聚糖	二糖单元	分布部位
透明质酸	D-葡糖醛酸,N-乙酰-D-葡糖胺	结缔组织、滑液、玻璃体液、软骨、骨
软骨素	D-葡糖醛酸,N-乙酰-D-半乳糖胺	软骨、角膜
硫酸软骨素 A	D-葡糖醛酸,N-乙酰-D-半乳糖胺-4-硫酸	软骨、骨、结缔组织
硫酸软骨素 C	D-葡糖醛酸,N-乙酰-D-半乳糖胺-6-硫酸	软骨、骨、结缔组织
硫酸皮肤素	L-艾杜糖酸,N-乙酰-D-半乳糖胺-4-硫酸	皮肤、血管、心瓣膜、骨
硫酸角质素	D-半乳糖,N-乙酰-D-半乳糖胺-6-硫酸	角膜、软骨、椎间盘
肝素	D-葡糖醛酸,D-葡糖胺;L-艾杜酸,D-葡糖胺	肺、肝、皮肤和小肠粘膜
硫酸类肝素	与肝素的相同。但分子小,硫酸化程度低	肺、动脉壁

软骨基质可抗受几百个大气压。

无脊椎动物和植物中尚具有其他类型的多糖,支持细胞外基质结构。如高等植物中,纤维素链结合成带形结晶,构成了微原纤维(microfibril)。在昆虫等节肢动物中,几丁质(聚 N-乙酰葡糖胺)是构成外骨骼的主要成分。

在结缔组织中,GAG 在重量上比纤维蛋白少了约 10%,但在体积上却占了细胞间质的大部分空间。GAG 凝胶不仅为组织提供了支持作用,而且凝胶中尚含有许多孔洞,因此水溶性分子可在凝胶中迅速扩散,同时也有利于细胞在基质中的迁移。

在四类多糖中,透明质酸的分子结构最为简单,是唯一的一种不含硫酸的成员,它是 GAG 中进化最早的一种形式。透明质酸是由 25 000 多个二糖单元重复连接而成(图 5-3),存在于动物所有组织和体液中,只是在含量上有组织差异,在早期胚胎组

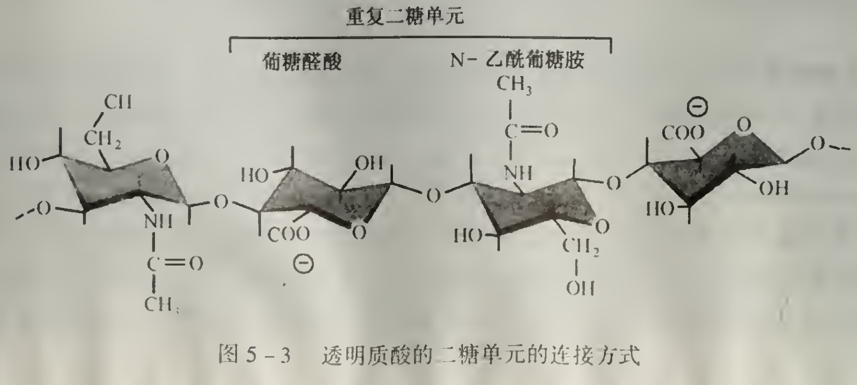


图 5-3　透明质酸的二糖单元的连接方式

织中特别丰富。

细胞外基质中的透明质酸不是由细胞分泌产生的，而是由质膜中的酶复合物直接从细胞表面聚合出的分子链。透明质酸不与蛋白质形成共价结合的蛋白聚糖，但是它可作为中轴，结合上蛋白聚糖单元，形成巨大的多体复合物。

透明质酸的功能是多方面的：①在成体组织和关节中抵御压力；②在胚胎发育中起空隙填充物的作用，使结构保持一定的形状；③为形成组织结构准备空间，例如在上皮层的基侧合成透明质酸，随后细胞迁入，形成结构，在心脏和角膜形成过程中即有这种相同的变化，多余的透明质酸即被透明质酸酶水解掉；④起润滑剂的作用，如它是关节液的重要成分；⑤伤口愈合，在伤口处合成大量透明质酸。

与透明质酸相比，其他几种 GAG 均具有如下几个特征：①含硫酸基；②含有不同的二糖单元，排列顺序更加复杂；③链要短得多，由不到 300 个糖基构成；④与蛋白质共价结合，形成蛋白聚糖(proteoglycan)；⑤在细胞内合成，通过外排分泌到细胞外。

(二)蛋白聚糖

1. 分子结构

除透明质酸外，所有的 GAG 均可与蛋白质共价结合，形成更加复杂的高分子量复合物，这种复合物称为蛋白聚糖。结合的蛋白质称为核心蛋白(core protein)。蛋白聚糖与糖蛋白很容易根据性质、含量和糖侧链的排列区别开来。糖蛋白在重量上有 1% ~ 60% 为由短的分支寡糖链所组成的碳水化合物。蛋白聚糖的碳水化合物的含量可高达 95% 以上，大都形成不分支的长 GAG 链，每条链大约有 80 个糖残基长。因此蛋白聚糖分子要比糖蛋白大得多。大的蛋白聚糖，如软骨集合聚糖 (aggrecan)，质量可达 3×10^6Da，所含的 GAG 链超过 100 条；小的蛋白聚糖，仅具有 1 ~ 10 条 GAG 链，如装饰蛋白聚糖(decorin)只有 1 条 GAG 链，相对分子质量亦可达 4×10^4Da。

蛋白聚糖链还可以透明质酸为中轴结合成巨大的多体复合物，聚集素 (aggrecan) 即是一个典型代表(图 5－4)。蛋白聚糖通过两个连接蛋白分子和透明质酸相结合，中介的连接蛋白称为透明黏合蛋白(hyaladherin)。许多透明黏合蛋白含有同源性的透明质酸结合区，区内有一些特征性的带正电荷的氨基酸残基。

2. 合成和类别

蛋白聚糖的核心蛋白肽链是由糙面内质网上的核糖体合成，随之进入内质网腔。其多糖链是在高尔基体囊腔中装配到核心蛋白上的。首先是一个专一的连接四糖 (link tetrasaccharide) (—木糖—半乳糖—半乳糖—葡糖醛酸—) 连接到核心蛋白的丝氨酸残基上，作为多糖链生成的引子。在高尔基体中有专一性的糖基转移酶 (glycosyl transferases)，在这些酶的作用下，一个个糖基被依次加接上去，形成了 GAG 糖链 (图 5－5)。

在高尔基体中，原先聚合上的许多糖基要被修饰，发生硫酸化和差向异构化 (epimerization)(两个旋光异构体仅因一个不对称碳原子而彼此构型不同，每一个即是一个差向异构体，由一个形成另一个差向异构体的变化称为差向异构化)。硫酸化可使蛋白聚糖的负电荷大大增加，而差向异构化则使糖分子中绕单个碳原子的取代基

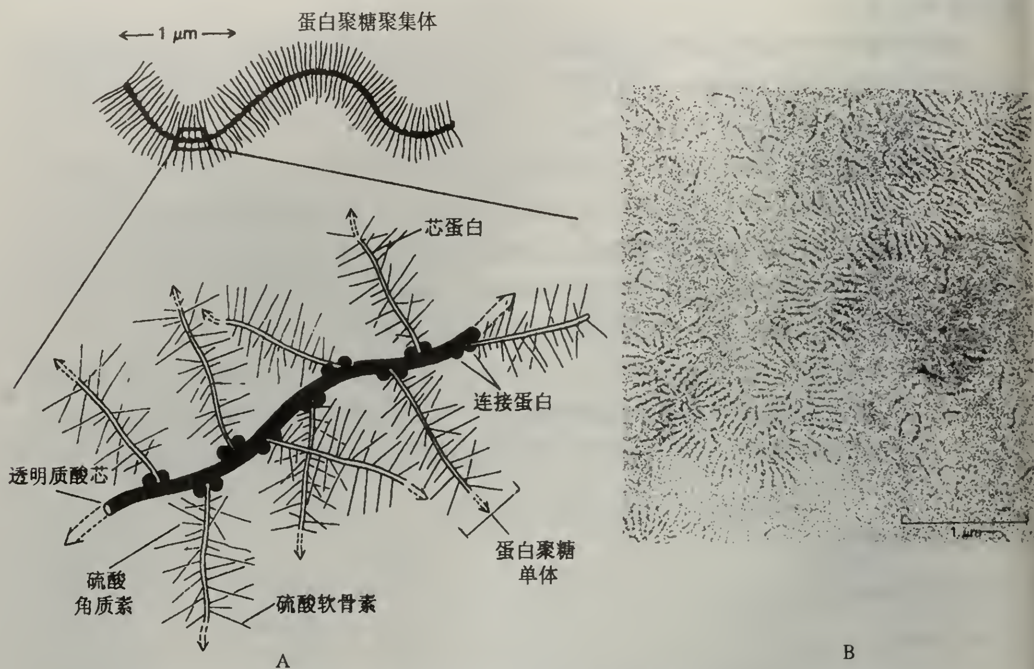


图 5－4　胎牛软骨的一个集合聚糖集合体

集合体约由 100 条集合聚糖单体所组成，每条蛋白聚糖单体通过两个连接蛋白分子同一条透明质酸链结合 A. 连接蛋白(装饰蛋白聚糖)起稳定集合体的作用，它是透明黏合蛋白家族成员。此集合体的相对分子质量达 10^8 以上，体积为 $2\times10cm^3 \sim 2\times12cm^3$，大小与一个细菌相当 B. 为经铂染色的集合体标本电镜图

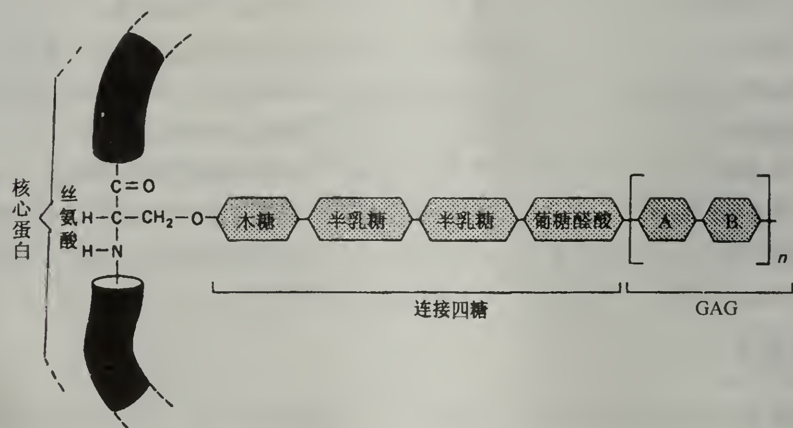


图 5－5　蛋白聚糖中的 GAG 链与核心蛋白的连接方式

一个专一的连接四糖首先结合到核心蛋白的丝氨酸残基上。丝氨酸所处的肽链部位具有专一的构象，可被识别。GAG 链的其余部分则主要由重复二糖单元所组成

(substituents)的构型发生改变。

从原理上讲，蛋白聚糖可有无限多种。因为：①核心蛋白的相对分子质量变化范围很大，从 $1\times10^4 \sim 6\times10^4$Da 的都有，其核心蛋白的氨基酸序列差别也很大，缺少共同的结构特征；②结合的 GAG 链花样繁多，由于硫酸基的修饰，每一 GAG 链中的二糖单元的重复形式也不一样。因此，蛋白聚糖便很难根据所含的糖加以分类。表 5－2 只是列

出了几种常见的蛋白聚糖。

表 5-2 几种常见的蛋白聚糖

蛋白聚糖名称	核心蛋白约近相对分子质量	GAG 链类型	GAG 链数目	分布	功能
聚集素 (aggrecan)	210 000	硫酸软骨素 + 硫酸角质素	~130	软骨	机械支持;与透明质酸形成大集合体
乙聚糖 (betaglycan)	36 000	硫酸软骨素/硫酸皮肤素	1	细胞表面和基质	结合 TGF-β
装饰素 (decorin)	40 000	硫酸软骨素/硫酸皮肤素	1	结缔组织	与Ⅰ型胶原原纤维和 TGF-β 结合
渗滤素 (perlecan)	600 000	硫酸类肝素	2~15	基膜	在基膜中起过滤和结构作用
丝甘素 (serglycin)	20 000	硫酸软骨素/硫酸皮肤素	10~15	血白细胞中的分泌泡	协助包装和贮存分泌分子
联合素-1 (syndecan-1)	32 000	硫酸软骨素 + 硫酸类肝素	1~3	成纤维细胞和上皮细胞表面	细胞黏合;结合 FGF

3. 蛋白聚糖的功能

蛋白聚糖的功能决定于其核心蛋白和 GAG 的性质。GAG 同蛋白质结合，例如同基质中的纤维蛋白(如胶原)或蛋白质网(如基膜)结合,编制成了极为复杂而有秩序的空间结构。其功能均与这种结构有关。

(1)渗滤作用。蛋白聚糖在细胞间形成一个水化空间,由 GAG 链构成的凝胶具有选择筛的作用。筛孔的大小和电荷密度不同,因而可按分子和细胞的大小及携带电荷性质、多少,对穿过筛孔的运输进行调节。例如,由蛋白聚糖渗滤素(perlecan)组成的肾小球基膜, 即起分子筛的作用,它可阻止大分子穿过基膜由血液进入尿液。

(2)细胞间化学信号传递。蛋白聚糖可同细胞分泌出的信号分子结合,如结合生长因子,从而增强或抑制生长因子的活性。例如,成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor , FGF)具有刺激多种细胞增殖的能力,FGF 可同蛋白聚糖的硫酸类肝素链结合,结合后才能激活细胞表面的 FGF 受体。该受体是一种跨膜酪氨酸激酶,被激活后进一步启动胞内信号传递过程。然而,信号分子并不都是与 GAG 链结合,如转化生长因子β(transforming growth factor β, TGF-β)则是与某些蛋白聚糖的核心蛋白(包括装饰素)结合,使 TGF-β 的活性受到抑制。

(3)调节分泌蛋白的活性。某些分泌蛋白,如蛋白酶和蛋白酶抑制物,与蛋白聚糖结合后,固定在分泌部位附近,可产生如下几种效果:①使其迁移受阻,限制了分泌蛋白的作用范围;②抑制蛋白质的空间活动,为蛋白质的缓释提供了储库;③浓集分泌蛋白,使之更有效地与细胞表面受体相互作用;④保护分泌蛋白,使不被蛋白质水解酶所降解,延长作用时限。

(4)细胞表面的辅受体(co-receptor)。蛋白聚糖不都是分泌到细胞外的细胞外基质成分,例如丝甘素(serglycin)即是分泌泡中的成分,协助包装和贮存分泌分子。也有些蛋白聚糖是质膜的整合成分，其核心蛋白穿越脂双层，或者通过葡糖磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidyl inositol, GPI)与脂双层结合。例如成纤维细胞和上皮细胞的质膜中有一种称为联合素(syndecan)的蛋白聚糖，以其核心蛋白穿膜，细胞外区连有许多硫酸软骨素和硫酸类肝素 GAG 链,细胞内区则与皮层中的肌动蛋白丝相连。它与整联

蛋白(integrin)都为细胞外基质(如胶原、纤黏连蛋白等)的受体蛋白。因此,质膜中的蛋白聚糖可与细胞表面的适当受体协作,既可介导细胞与细胞外基质结合,亦可引发细胞对某些生长因子产生反应。

二、纤维蛋白

多细胞动物的细胞外基质是由基质成分和纤维成分两大部分组成。前者主要是由糖类物质构成,而后者则是主要由纤维蛋白组成的纤维结构所构成。纤维成分可以看成是细胞外基质中的骨架。在各种组织中,纤维成分的结构形态和含量各有不同,如在疏松结缔组织中形成立体网状,而在腱中则构成平行束。构成细胞外基质的纤维蛋白主要有胶原、弹性蛋白、纤连蛋白和层黏连蛋白等。

(一)胶原

胶原 (collagen) 是多细胞动物中的典型纤维蛋白。它是由结缔组织中的成纤维细胞和其他一些细胞分泌产生的,构成了结缔组织、骨和软骨的主要组成成分。胶原是哺乳动物中最丰富的蛋白质,其重量约占体内蛋白质总重的25%。



图 5-6　胶原原纤维电镜图
胶原溶液经 1% NaCl 透洗沉淀产生的胶原原纤维,显示出胶原周期(64.9nm)

1. 胶原的分子结构

由胶原分子装配成的最常见的结构形式是胶原纤维 (collagen fiber),胶原纤维的直径可达几微米。在电镜下可以看出,胶原纤维是由若干胶原原纤维 (collagen fibril) 平行排列组成,胶原原纤维的直径约 10~300nm,长达几百微米(图 5-6)。

每条胶原原纤维是由胶原分子规则装配而成,胶原分子首尾相接连成线,并列成束,组成胶原原纤维。由于分子行排列极其规则,从而使原纤维显现出周期性的横带(图 5-7)

胶原分子是由 3 股 α 肽链以绳索纽绞的方式形成右手型超螺旋结构。胶原 α 链中脯氨酸和甘氨酸的含量极为丰富。α 链呈左手型螺旋构象,每 3 个氨基酸螺旋一圈,其中有一个为甘氨酸残基,故形成了 Gly-X-Y 三体序列,X 和 Y 可以是任何一种氨基酸,但通常 X 为脯氨酸,Y 为羟脯氨酸。

现已发现 25 种 α 肽链,各由一个基因编码。在不同组织中有不同的基因表达,因而 3 股链组合成的胶原分子可有不同的类型,迄今已发现 15 种类型。结缔组织中主要为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅴ和Ⅺ型;皮肤和骨中为Ⅰ型。Ⅸ和Ⅻ型是装配在原纤维表面上的胶原,称为原纤维结合胶原 (fibril-associated collagen),其作用是将原纤维结合成束,并与细胞

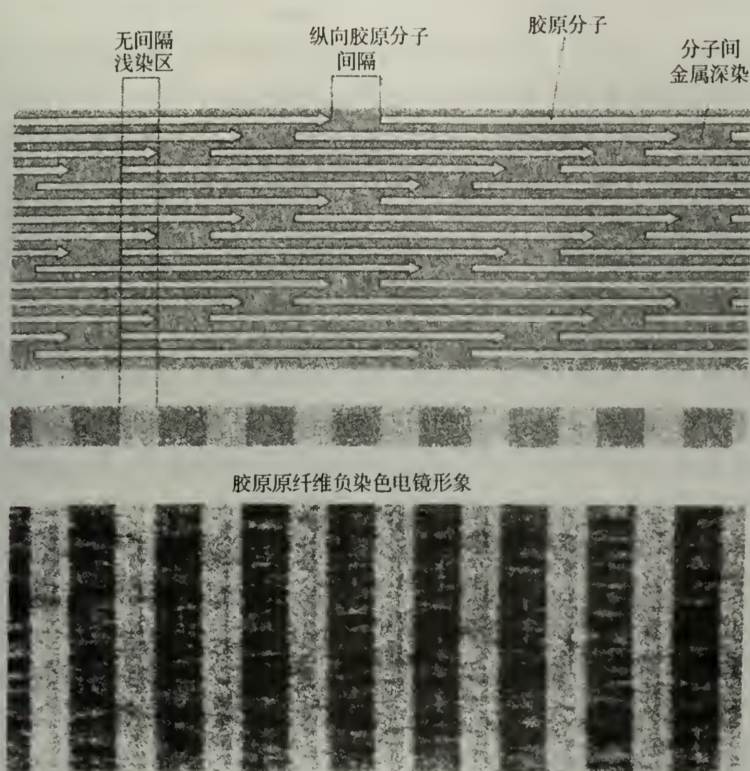


图 5-7 胶原分子规则交错排列使胶原原纤维呈现横条纹图解
图下部的图片为经负染色的电镜图

外基质中的其他成分相连接。Ⅳ和Ⅶ型为网络形成胶原(network-forming collagen)。Ⅳ型分子装配成网状或片状结构,是形成基膜的主要成分。VII 型分子形成二聚体,装配成了锚定原纤维(anchoring fibril),将复层上皮的基膜与下方的结缔组织连接起来,因而Ⅶ型胶原在皮肤中特别丰富。表 5-3 列出了几种胶原的特性和分布。

2. 胶原的分泌与装配

胶原纤维是经多步过程装配而成,包括胶原分子的合成、分泌和修饰等步骤。胶原

表 5-3 几种胶原的特性和组织分布

类别	类型	分子式	聚合形式	组织分布
形成原纤维	Ⅰ	$[\alpha1(\text{Ⅰ})]_2\alpha2(\text{Ⅰ})$	原纤维	骨、皮肤、腱、韧带、角膜、内部器官
	Ⅱ	$[\alpha1(\text{Ⅱ})]_3$	原纤维	软骨、椎间盘、脊索、眼中玻璃状液
	Ⅲ	$[\alpha1(\text{Ⅲ})]_3$	原纤维	
	Ⅴ	$[\alpha1(\text{Ⅴ})]_2\alpha2(\text{Ⅴ})$	原纤维(结合Ⅰ型)	皮肤、血管、内部器官
	Ⅺ	α1(Ⅺ)α2(Ⅺ)α3(Ⅺ)	原纤维(结合Ⅱ型)	同Ⅰ型
结合原纤维	Ⅸ	α1(Ⅸ)α2(Ⅸ)α3(Ⅸ)	侧连	同Ⅱ型
		结合Ⅱ型原纤维		
	Ⅻ	$[\alpha1(\text{Ⅻ})]_3$	侧连	软骨
形成网络	Ⅳ	$[\alpha1(\text{Ⅳ})]_2\alpha2(\text{Ⅳ})$	片层网络	腱、韧带、其他组织基膜
	Ⅶ	$[\alpha1(\text{Ⅶ})]_3$	锚定原纤维	复层鳞状上皮下方

分子的多肽链是在内质网膜结合的核糖体上合成的，最初合成的多肽链为前体肽链，称为前 α 链(pro-α chain)。合成的前体肽链进入内质网腔，此前体链除在氨基端带有信号肽序列外，在氨基端和羧基端尚带有称为前肽(propeptides)的氨基酸序列。在内质网腔中，前肽链中的脯氨酸和赖氨酸残基分别被羟化为羟脯氨酸和羟赖氨酸。每一条前 α 链与其他两条前 α 链通过由羟基形成的氢键相互结合，构成了 3 股螺旋的前胶原(procollagen)分子。此分子的装配起始于内质网，后经高尔基体装配完成，被包装到分泌泡中，分泌到细胞外。此外，成纤维细胞还有另一种决定胶原基质空间结构的方式，即细胞沿已分泌出的胶原爬行，像蜘蛛一样将其编织成片和束。

前胶原被分泌到细胞外之后，前肽序列被专一的蛋白质水解酶切除，于是前胶原转变成了胶原分子。胶原分子在细胞外又进一步装配成了胶原原纤维，最后后者又装配成了胶原纤维(图 5－8)。前 α 链中存在有前肽链序列的作用是，阻抑前胶原分子在细胞内即装配成大的胶原原纤维。如果切除前胶原的前肽序列，那么胶原分子即可自动装配成胶原原纤维。胶原分子的可溶性比前胶原分子大了 1000 倍。分泌泡在细胞质中排列成串，同质膜融合后，可使细胞质膜向内形成深陷的凹槽。凹槽中的胶原分子便沿凹槽的细胞表面装配成胶原纤维。质膜下方的细胞骨架对原纤维的装配部位、速率和方向具有一定的影响。胶原原纤维上显现出的横纹是胶原分子规则排列的反映，横纹间距为 67nm。原纤维一旦形成，胶原分子便通过在赖氨酸间的共价结合，加固了原纤维的结构。这种结合要依赖于原纤维结合胶原(fibril-associated collagen)(如Ⅸ型和Ⅻ型胶原分子)的参与。

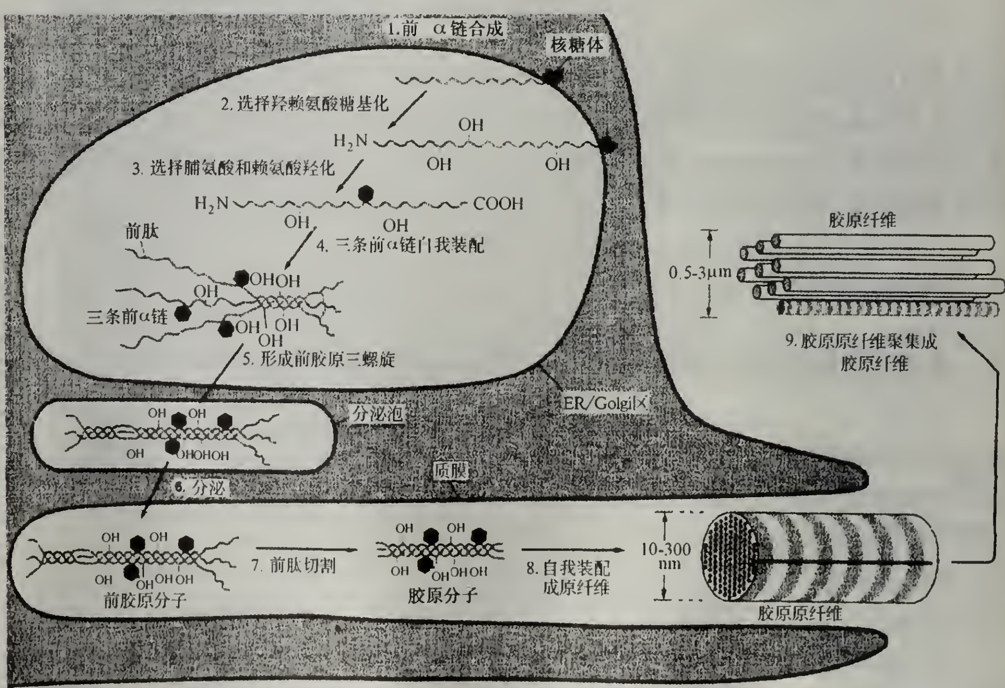


图 5－8　胶原原纤维形成过程中在细胞内和在细胞外的变化示意图
(解释见正文)

3. 影响胶原纤维装配的因素

(1)羟基化作用。赖氨酸和脯氨酸的羟基化是三条前 α 链组装成三股螺旋的前胶原分子的必要条件。由于前 α 链之间靠羟基形成了氢键,从而使三股螺旋保持稳定。当抗坏血酸(维生素 C)缺乏时,影响了赖氨酸的羟基化,因而就形不成稳定的三股螺旋。在这种情况下,细胞内的前 α 链即很快被降解,已形成的正常胶原亦逐渐丧失,结果造成血管脆化,牙槽松动。

(2)基因突变。在胶原纤维形成过程中,包括若干步反应,涉及到许多酶,任何一步发生故障都可使胶原纤维的形成发生异常。胶原多肽链分若干类型,如果为胶原多肽链编码的基因发生突变,必然要影响到胶原多肽链的性质和胶原纤维的装配。Ⅰ型胶原基因发生突变,会造成骨发生不全,骨脆弱,易发生骨折;Ⅱ型胶原基因发生突变,引起软骨发生异常,导致骨和软骨畸形;Ⅲ型胶原基因突变,则引起皮肤和血管脆弱、关节过于滑动。

(3)胶原分子间的横键数量。胶原原纤维中相邻胶原分子间,经赖氨酸残基横连成共价键,从而加固了原纤维的稳定性。如果横键的建立受阻,则原纤维的张力强度大大下降,胶原组织变脆,皮肤、腱、血管易被撕裂。跟腱中横键特别丰富,具有很强的抗张能力,适应于支撑体重和进行剧烈运动。

(4)原纤维结合胶原的作用。在不同组织中,胶原原纤维的粗细和排列方式有所不同,即便是由纤维胶原组成的同一种混合物,也会有类似的情况。例如,在哺乳动物皮肤中,原纤维编织成网,故具有抗多方向张力的作用;在腱中则平行排列;在骨和角膜中则形成多片层结构,相邻层次间原纤维走向相互交错成一定角度。原纤维这种空间结构的多样性要受分泌细胞的调控,胶原分子分泌后,在质膜的指引下组织成胶原纤维。此外,胶原原纤维的空间结构还要受细胞外基质中的其他大分子的影响,特别是受原纤维结合胶原(fibril-associated collagens)的影响。原纤维结合胶原与纤维性胶原不同,它本身不形成纤维,而是协助原纤维的空间装配。它具有如下特性:①分子结构中有一两处非螺旋区,故三股螺旋在某些部位发生间断,间断处易折屈;②分泌后,前肽链未被切除;因而③分子间不能彼此结合成原纤维。

然而,原纤维结合胶原可有秩序地结合到由纤维胶原组装成的原纤维表面上,例如Ⅸ型分子是结合在由Ⅱ型胶原组成的原纤维表面上,分布于软骨、角膜和眼球玻璃液等组织中;而Ⅻ型分子则结合在含Ⅰ型胶原的原纤维上,分布于腱等组织中。由此可见,原纤维结合胶原在原纤维与原纤维、原纤维与细胞外基质其他分子相互结合中起重要作用。

(二)弹性蛋白

脊椎动物的疏松结缔组织的纤维成分除有大量由胶原形成的胶原纤维外,尚含有许多弹性纤维。弹性纤维具有很强的弹性,类似于橡皮筋,被拉长后又可自动收缩成卷曲状(图 5-9),使组织富有弹性。在结缔组织中,韧性强的胶原纤维与弹性纤维交织在一起,既具抗张力,又具有弹性,从而可保护组织避免因强力拉拽而被撕裂。有些器官需要具有很强的弹性,在受到外力牵拉后可随即恢复原有的状态,如皮肤、大

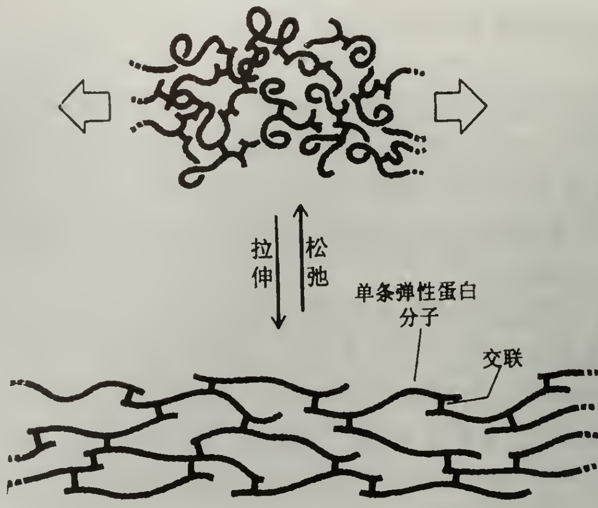


图 5－9　弹性蛋白分子网伸缩变化示意图

动脉血管、肺、韧带等。它们的结缔组织层含弹性纤维特别丰富，故特称为弹性结缔组织。

关于弹性纤维的结构还不完全清楚。在电镜下显示出，弹性纤维是由两种成分组成，一种是细丝状的微原纤维（microfibrils），直径约 11nm，聚集成束；另一种是，是由弹性蛋白（elastin）组成的无定形成分。微原纤维束埋藏在无定形成分之中。

弹性蛋白的基本亚单位是原弹性蛋白（tropoelastin），原弹性蛋白的分子量约为 72 000，约由 800 个氨基酸残基组成，富含甘氨酸和丙氨酸。原弹性蛋白与原胶原的不同之处是，它含有许多赖氨酸和缬氨酸残基，但极少脯氨酸。原弹性蛋白肽链形成一些特殊类型的螺旋，螺旋区之间插有含赖氨酸和丙氨酸残基的小区段。螺旋区具有拉伸和收缩弹性。

原弹性蛋白由成纤维细胞和平滑肌细胞等合成之后，被释放到细胞外表，这时的原弹性蛋白主要由疏水性的不带电荷的氨基酸组成。随后，在弹性纤维表面，经赖氨酰氧化酶的催化，原弹性蛋白中的赖氨酸转化成了醛，从而变成了原弹性蛋白中所特有的氨基酸—锁链素（desmosine）和异锁链素（isodesmosine）。锁链素的中心环是由四个赖氨酸残基的 R 基交联形成，因而在弹性蛋白聚合过程中可将原弹性蛋白链交连在一起，使弹性蛋白网具有多方向伸缩的性能（图 5－10）。

弹性纤维中的微原纤维是由肌原纤维蛋白（fibrillin）组成。在胚胎发生过程中，首先是在成纤维细胞和间充质细胞的表面形成微原纤维束。随后出现无定形成分，形成了弹性纤维的大部分，微原纤维埋藏其中（图 5－11）。在弹性纤维装配过程中，微原纤维起着重要作用。在组织发生中，它首先形成支架，然后细胞分泌出弹性蛋白分子附着其上，随着纤维的生长，微原纤维移到弹性纤维的外围。

（三）非胶原性黏合蛋白

在细胞外基质中除了纤维性胶原蛋白外，尚含有许多非胶原性黏合蛋白

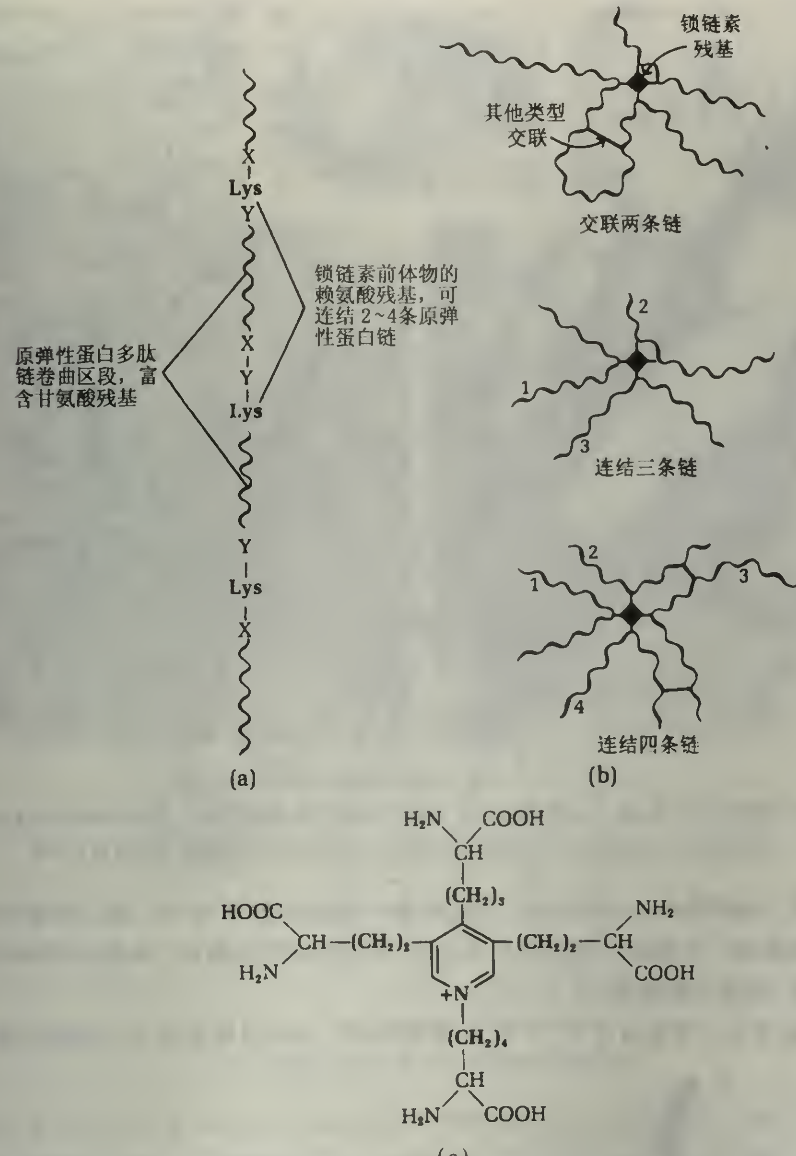


图 5－10　弹性蛋白分子及其交联成多肽链网的形式示意图

(a)原弹性蛋白的一个片段；(b)原弹性蛋白分子通过锁链素交联成富有弹性的立体网；(c)锁链素分子结构，它是弹性蛋白中所特有的一种蛋白质，它可同4个赖氨酸残基的R基结合，构成环状

(noncollagen adhesive proteins)。这些黏合蛋白分子是由多个区组成，每个区都含有可与其他基质大分子或细胞表面受体专一结合的位点。因此，这些蛋白质既可相互结合组装成细胞外基质结构，亦可使细胞与基质相结合。在脊椎动物中，研究得最清楚的非胶原性黏合蛋白有纤连蛋白(fibronectin)和层黏连蛋白(laminin)。

1. 纤连蛋白

(1)纤连蛋白的分子结构。纤连蛋白是一种糖蛋白，其糖含量因组织不同和分化程度而有差异，大约为4.5%～9.5%。分子是由两个亚基组成的二聚体，在靠近羧基

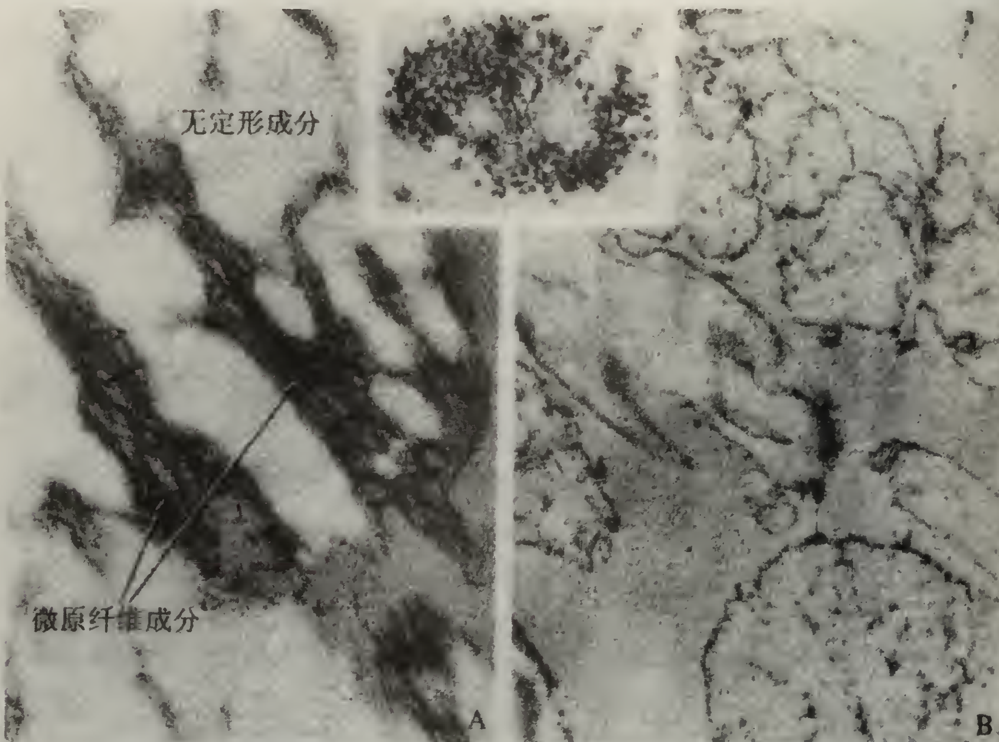


图 5 - 11 由胎牛项韧带制备出的弹性纤维

A. 深染条纹为微原纤维，浅着色区为弹性蛋白；B. 破坏二硫键，去除微原纤维后，弹性纤维剩下的无定形原弹性蛋白成分；上中框中示弹性纤维形成的早期，产生的微原纤维围绕在弹性蛋白芯周围

端有一对二硫键将两个亚基连在一起，使两个亚基排成"V"字形。每一亚基长约 2500 个氨基酸残基。亚基多肽链折叠成 5～6 个棒状和球形功能区，功能区之间的连接部位可折屈，对蛋白酶敏感(图 5 - 12)。

多肽链含有三种重复序列，即 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ 型组件。功能区即是由这三种组件重复组合

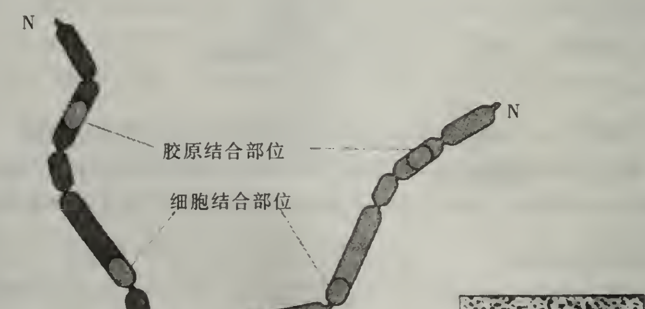


图 5 - 12 纤连蛋白二体的分子结构

分子中的两条多肽链是由同一个基因编码，但由剪接不同的 mRNA 翻译而成，两个亚基分别由 5 或 6 个功能区组成，各功能区分别可同特定的分子或细胞发生专一结合。(A)纤连蛋白分子图解；(B)电镜图(自 Engel,J. *et al.* 1981)

而成。其中最主要的组件是Ⅲ型纤连蛋白重复(type Ⅲ fibronectin repeat),长约90个氨基酸残基。每一亚基中至少含有15个Ⅲ型重复(图5-13)。

在Ⅲ型重复中含有一专一的三肽序列,-Arg-Gly-Asp-(RGD),此RGD序列可专同

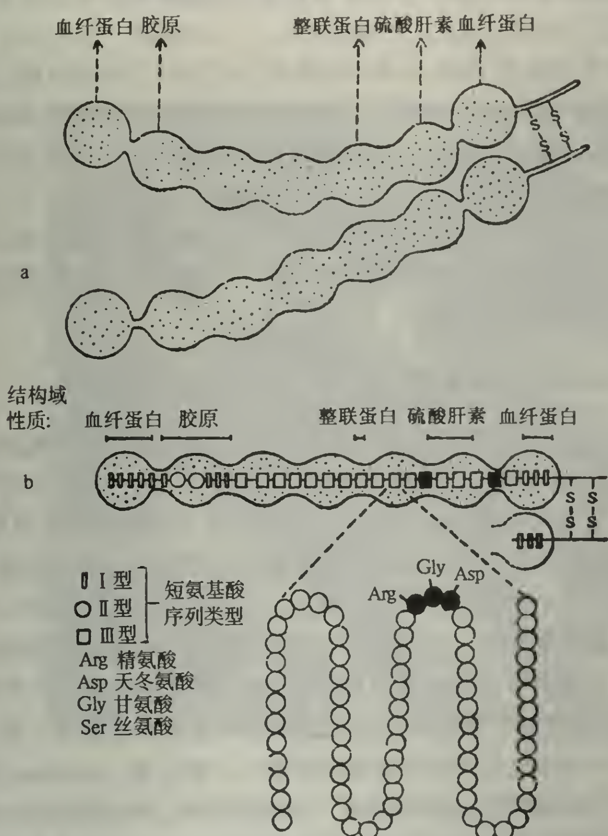


图5-13 纤连蛋白的亚基结构图解

a. 分子功能区示意图;b. 示结构域的氨基酸序列

细胞结合。于是一些含有RGD序列的短肽可与纤连蛋白竞争同细胞结合部位结合,因此这种短肽序列具有抑制细胞同基质结合的作用。如果在一固体表面上黏合上RGD序列,也可引起细胞与之结合。但RGD序列不是纤连蛋白所独有,许多细胞外基质蛋白都含有此序列。此序列可被细胞表面基质受体中的整联蛋白(integrin)所识别。因此,所谓的RGD序列,即是指纤连蛋白和其他某些细胞外基质蛋白中所含的可被细胞的某些整联蛋白所识别的'精-甘-天冬'三肽序列。但细胞的每种基质受体只能专一识别几种基质蛋白分子,由此可见细胞与基质的结合除了需要有RGD序列外,尚要求有其他序列存在。

(2)纤连蛋白异构型的多样化。纤连蛋白包括有多种异构型,如可溶性的血浆纤连蛋白和高度不溶性的细胞表面纤连蛋白,以及细胞外基质纤连蛋白。它们的功能有所不同,血浆纤连蛋白具有增强血凝、参与伤口愈合和吞噬作用的功能。细胞表面纤连蛋白二聚体通过二硫键交联成了纤连蛋白质丝。

纤连蛋白的所有异构型都是由一个大的基因(~50kb)编码,基因中含有50个大小相同的外显子。其转录产物为一个大的RNA分子。RNA分子可在3个区中进行剪

接，产生不同的 mRNA，不同的 mRNA 所编码的纤连蛋白亚基肽链略有不同。例如在人体中，转录出的 RNA 分子可被剪接成 20 种不同的 mRNA，从而翻译成了不同的纤连蛋白异构型。RNA 分子的剪接方式因不同的细胞类型和发育阶段而异。血浆纤连蛋白主要由肝细胞分泌，亚基中缺少两个Ⅲ型重复，而细胞和基质的纤连蛋白异构型则都含有Ⅲ型重复。

成体中的纤连蛋白基因 RNA 转录本的剪接方式不同于胚胎时期，但却可根据需要而有所变动。例如，当皮肤受伤时，纤连蛋白的剪接方式又可重返胚胎时期类型。这说明，早期胚胎和伤口愈合时所产生的纤连蛋白异构型具有一定的共性，它们都能促进细胞的迁移和增殖，适应胚胎发育和伤口愈合的需要。

动物的存活需要有纤连蛋白的多种异构型，如果纤连蛋白基因发生突变，改变了 RNA 的剪接方式，则会造成致死性的后果。例如，小鼠有两个拷贝的纤连蛋白基因因突变而失活，胚胎在发育早期即死亡。

2. 基质糖蛋白在细胞迁移中的作用

纤连蛋白不仅在细胞与基质结合中具有重要作用，而且对细胞的迁移有导向作用。例如，两栖类胚胎在原肠作用过程中，中胚层细胞要发生迁移，在迁移路线上即存在大量纤连蛋白。如果向胚体内注入抗纤连蛋白抗体和抗整联蛋白抗体，则会阻断细胞的迁移。这说明，纤连蛋白可促进细胞迁移是因它可促使细胞同基质结合。

除纤连蛋白外，另一种糖蛋白——黏胶蛋白（tenascin）在形态发生中也具有引导细胞迁移的作用。黏胶蛋白是一种大的糖蛋白复合物，由 6 条相同或相似的肽链通过二硫键连接而成。分子的 6 条肽链排成辐射状，每一条肽链都是由几种短的氨基酸序列重复组成，例如每条肽链中Ⅲ型纤连蛋白重复即可重复 8 次以上。每条肽链分为几个功能区，其中一个与细胞表面的跨膜蛋白聚糖——联合素（syndecan）结合，还有一个则结合纤连蛋白。黏胶蛋白的分布具有一定的局限性，在胚胎组织中最丰富。黏胶蛋白的作用具有双重性，根据细胞的类型的不同，它或者促进细胞黏合，或者抑制细胞黏合。这种双重性可能是由分子不同的功能区分别承担，通过黏合与反黏合作用来引导细胞迁移。

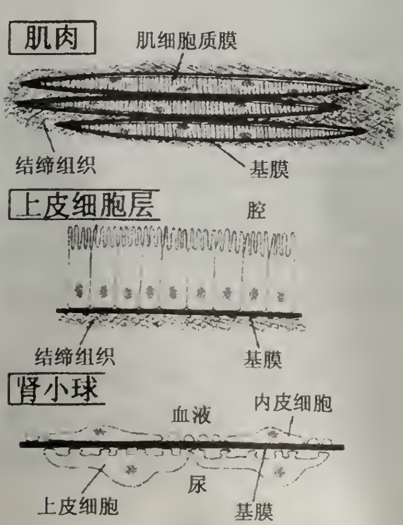


图 5－14 基膜结构的三种类型

3. 基膜与层黏连蛋白

动物上皮细胞层基部的下方均具有一薄层细胞外基质（40～120nm），此层结构称为基膜（basal laminae）。基膜性柔软，可折屈。除了上皮组织外，在单个的肌细胞、脂肪细胞、施旺细胞四周也围绕有基膜。在组织结构上，基膜把细胞与其下方的结缔组织隔开。在肾小球、肺泡等部位基膜介于两层细胞之间，起滤筛的作用（图 5－14）。但基膜不单是起过滤作用，除此之外它还有许多重要功能，如决定细胞的极性；影响细胞代谢；在细胞质膜附近组织蛋白质结构；诱导细胞分

化；引导细胞迁移等。

（1）基膜的结构与组成。基膜的组成成分主要是由坐落在基膜上的细胞分泌产生（图 5 - 15）。

成体基膜是由多种成分组成，包括有Ⅳ型胶原（type Ⅳ collagen）、大的硫酸类肝素——渗滤素（perlecan）、糖蛋白——层黏连蛋白（laminin）和内联蛋白（entactin）（图

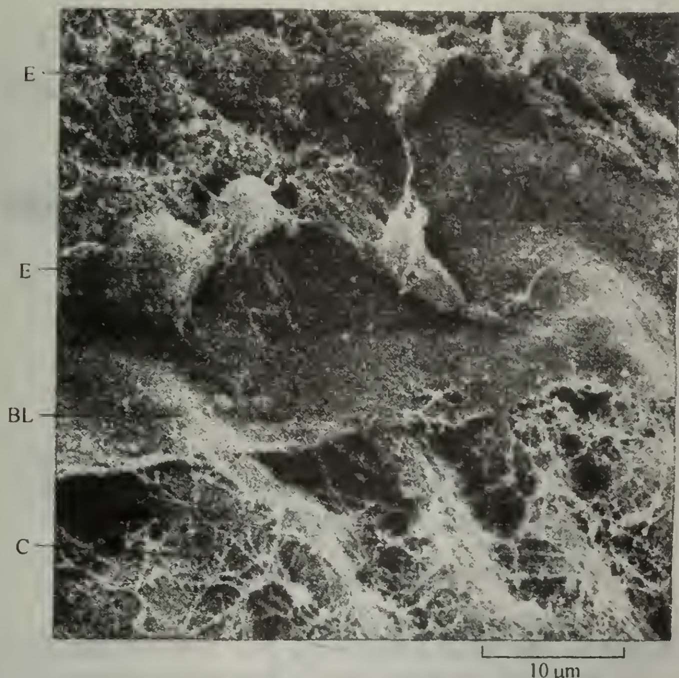


图 5 - 15　扫描电镜下的鸡胚角膜中基膜的显微图像

E. 上皮细胞；BL. 基膜；C. 基膜下方的结缔组织

5 - 16）。

Ⅳ型胶原分子由三股肽链螺旋纽绞而成，但螺旋并不连续，分子中有 26 处为非螺旋结构，因而使分子有许多可折屈的部位。分子分泌后并不切割，而保留着末端区，这样分子即不会并列组合成长的原纤维。然而，分子却可以其未切去的末端区相互连接，两个分子以羧基端头 - 头相连形成二聚体，二聚体分子的氨基端又可与另外的 3 个分子的氨基端并列侧向结合，于是胶原分子便组建成了网状片层。分子的氨基端尾部向片层的一侧伸出，与另一相邻片层的 N - 尾形成二硫键或其他共价键结合，从而使片层网组合成了多层性的不溶网架，类似于水泥构件中的钢筋网架（图 5 - 17）。基膜中的其他成分也可以网架为基础，与 IV 型胶原分子相结合。

在胚胎发育过程中，最早合成的基膜成分是层黏连蛋白，此时的基膜只有层黏连蛋白构成，不含Ⅳ型胶原。层黏连蛋白是由 3 条长肽链组成的大复合物（～850kDa），肽链通过二硫键连在一起，整个分子呈十字架形（图 5 - 18）。层黏连蛋白分子具有柔韧性，可折屈。分子中亦区分为几个功能区，分子中与Ⅳ型胶原、硫酸类肝素、内联蛋白和细胞表面的层黏连蛋白受体相结合的部位分别有 1 个、1 个、1 个和 2 至多个。层黏连蛋白也和Ⅳ型胶原一样，在体外，分子可通过臂末端相连，自我装配成片层。在分子的长臂与短臂相接处，每一分子上结合有一个哑铃形的内联蛋白分子，内联蛋白也

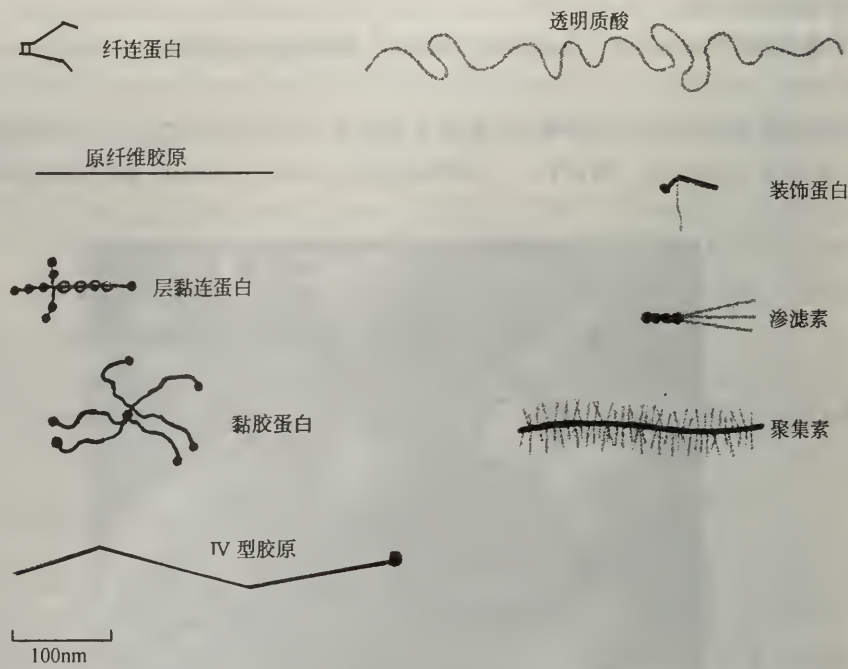


图 5－16　细胞外基质几种大分子的形态和大小
分子的深色部分是蛋白质区；浅色线代表葡糖胺聚糖

子的长臂与短臂相接处，每一分子上结合有一个哑铃形的内联蛋白分子，内联蛋白也同Ⅳ型蛋白结合，于是基膜中在Ⅳ型胶原网与层黏连蛋白网之间建立了另一种附加连桥（图 5－19），形成了类似胶合板式的结构。

(2) 基膜的功能。基膜除了在上皮与结缔组织之间具有结构连接作用之外，尚有其他许多重要功能，现总括如下：

1)分子筛滤。基膜起分子筛的作用，最典型的例证是肾小球中的基膜。肾中最初形成原尿的部位是肾小体（renal corpuscles），肾输入小动脉分成毛细血管襻伸进肾小体，毛细血管被足细胞的突起所包围。足细胞是一种高度特化的上皮细胞，它分支出大量的繁密突起缠绕在毛细血管的外面，相邻突起间留有裂隙，称为裂孔（split pores），宽约 25nm（图 5－20）。在毛细血管壁内皮细胞的外侧有一层厚约 0.1～0.15μm 的基膜，基膜的再外面即为足细胞的突起。血管内皮细胞上分布有大量的直径为 70～90nm 的小圆孔（图 5－21），基膜为连续层，足细胞突起间有裂隙。实验证明，除血细胞和大颗粒物质外，血管内皮上的窗孔可让血浆中的各种物质穿过。但是基膜则只让低相对分子质量的物质通过，而一些大分子，如铁蛋白（M_r 为 400 000），则不能通过。然而用辣根过氧化物酶（horse-radish peroxidase）（M_r 为 40 000）和髓过氧化物酶（myeloperoxidase）（M_r 为 160 000）实验表明，二者均可穿过基膜，而后者不能穿过足细胞的突起裂隙。由此可见，在肾小球中原尿的分子过滤是由基膜和上皮细胞突起间裂隙共同控制的，然而基膜处于第一线。

2)细胞筛选。基膜对细胞运动也起选择屏障作用，例如上皮的基膜可阻止下方结缔组织中的成纤维细胞与上皮细胞接触，但却不能阻止巨噬细胞、淋巴细胞和神经突

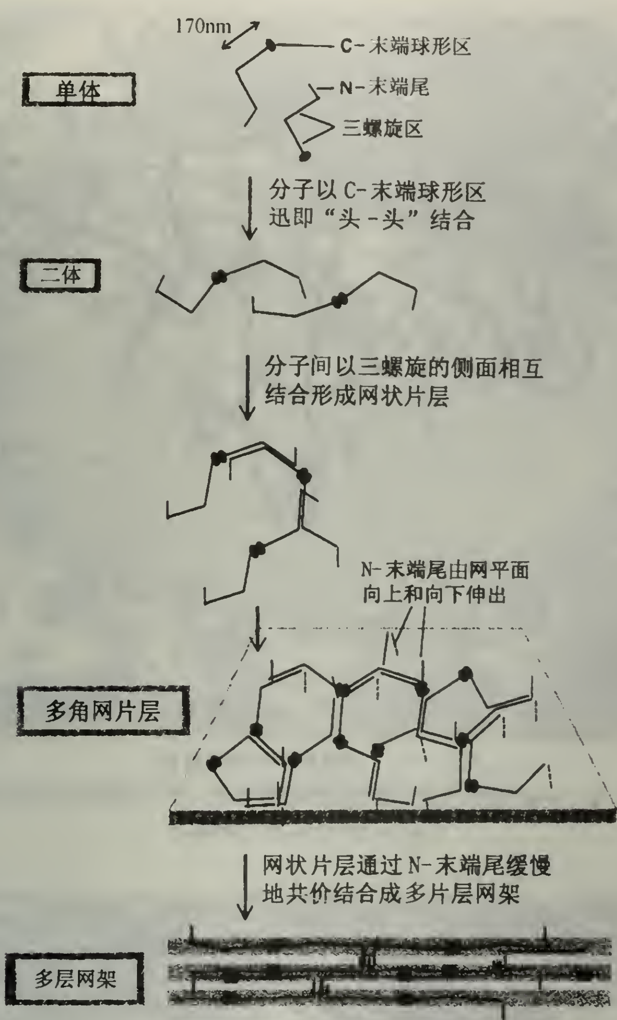


图 5-17 Ⅳ型胶原组成的多层网架示意图

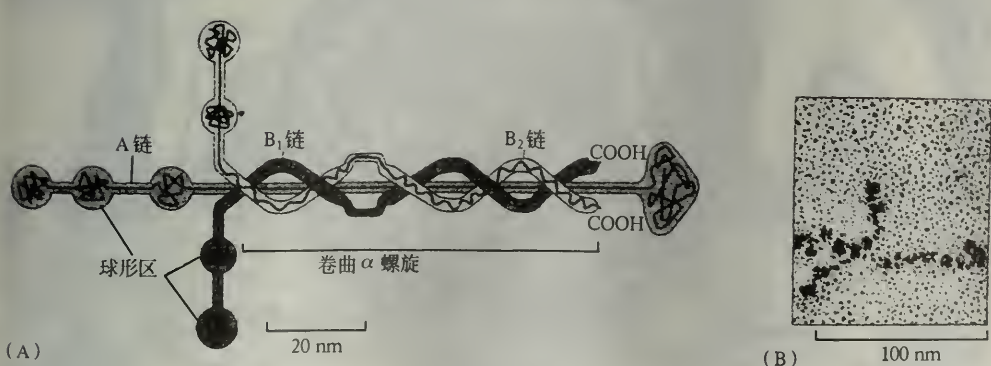


图 5-18 层黏连蛋白的分子结构

分子是由三条肽链(A、B_1、B_2)组绞成不对称的十字架状结构，每条肽链由1500多个氨基酸组成。A、B_1、B_2分别有3、3、2种，这些肽链原则上可组合成18种层黏连蛋白异构型，它们的分布因组织不同而异。层黏连蛋白异构型和Ⅳ型胶原异构型的多样性决定了基膜性质的差异。(A)分子中三条肽链螺旋缠绕示意图；(B)分子电镜图

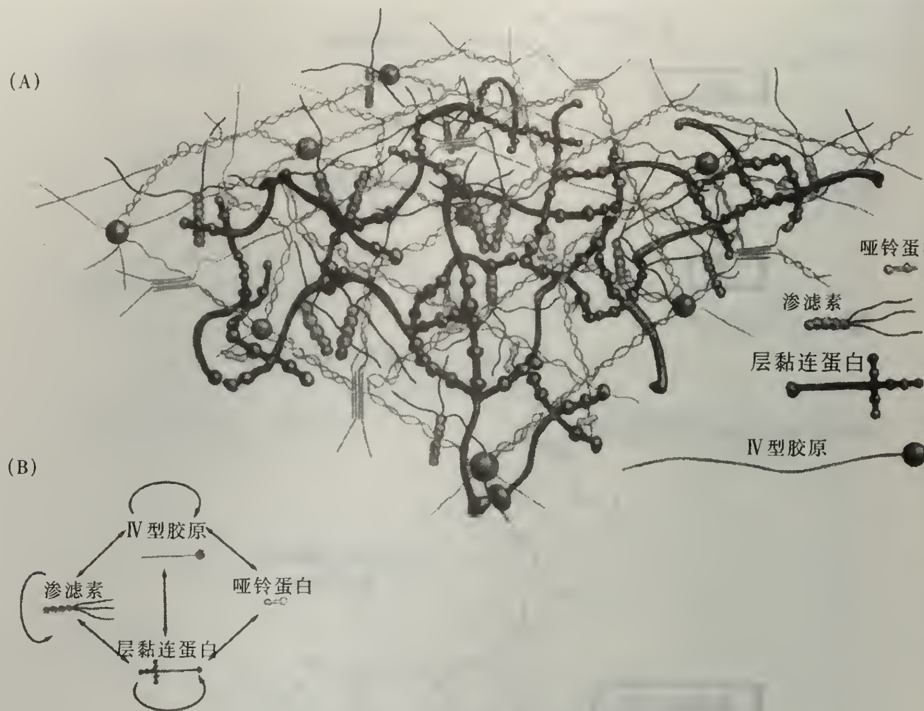


图 5－19　基膜的分子结构模型

(A) Ⅳ型胶原、层黏连蛋白和哑铃蛋白、渗滤素间形成的特定关系；(B) 示能够彼此直接结合的连接分子（自 Yurcheno. P. O. et al.　1990）



图 5－20　肾小体结构示意图

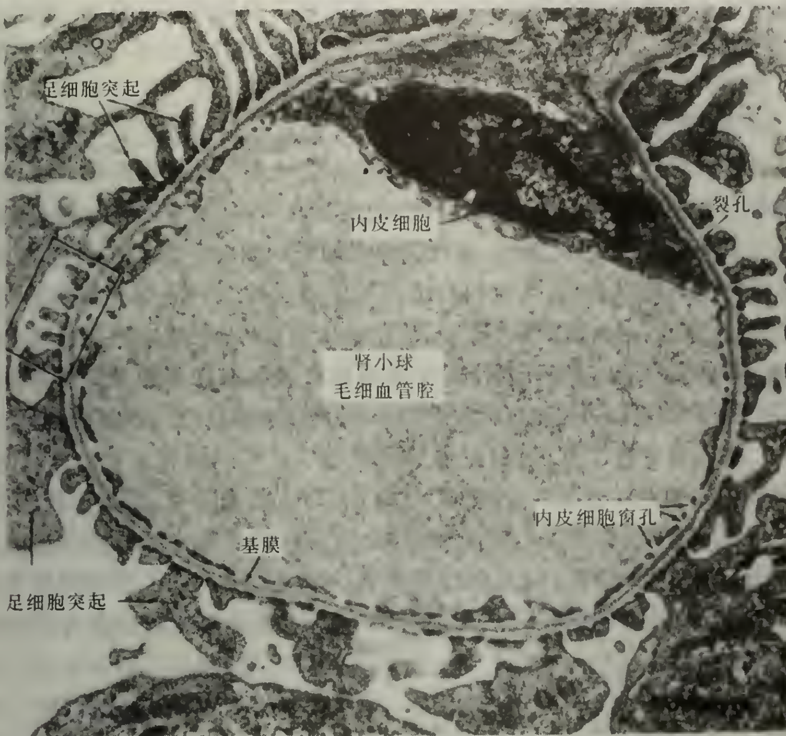


图 5－21　肾小球毛细血管横切面电镜图
方框部分的放大图见图 5－22

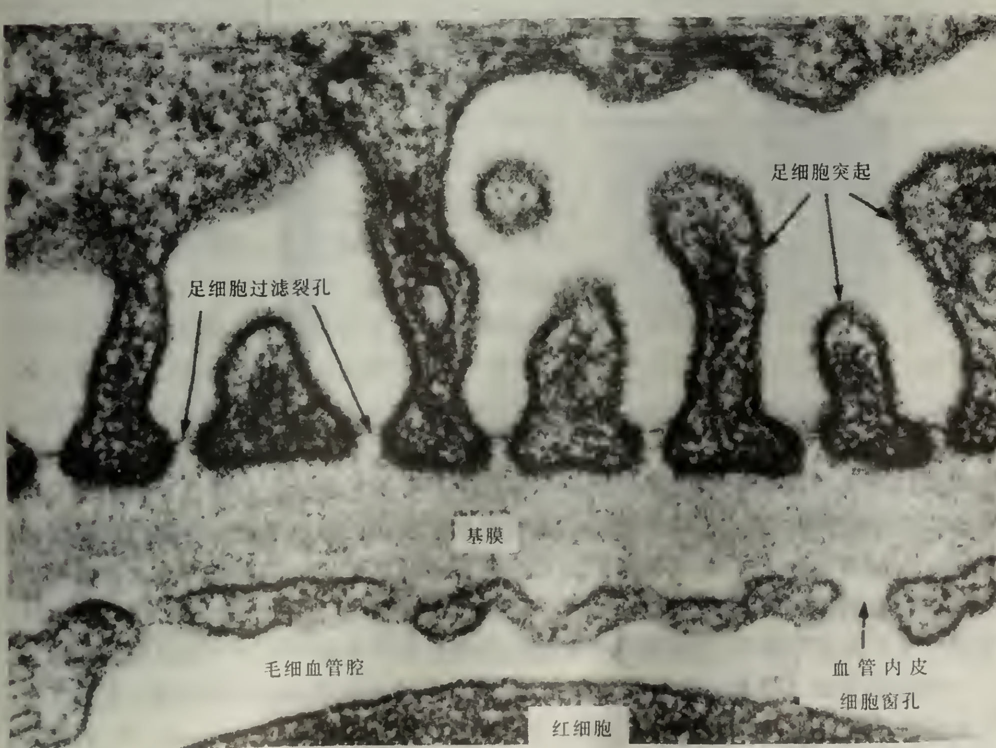


图 5－22　肾小球毛细血管局部放大电镜图
示基膜与血管内皮和足细胞之间的关系

3)组织再生。在受伤组织再生过程中,基膜发挥了重要作用。肌肉、神经、上皮受损伤后,只要基膜存在,即可为再生细胞提供支架,让它们沿其迁移。例如,皮肤、角膜受伤后,基膜的化学性质因纤连蛋白的添加而发生改变,这一改变促进了细胞的迁移,以利于伤口的修复。

青蛙神经肌肉接点再生实验是说明基膜在组织再生中发挥作用的典型例证。运动神经末梢在其与肌细胞接触处建立了神经肌肉接点(neuromuscular junction),接点处有突触(synapses)结构。在突触处,围绕肌细胞的基膜将两种细胞的质膜隔开。突触处的基膜具有特殊的化学性质,含有特有的Ⅳ型胶原异构型和层黏连蛋白。当神经和肌肉受损伤后,基膜在突触的重建中起了关键性的作用。如果用实验手段将青蛙的一条肌肉及其运动神经破坏,而保留基膜,手术后仍可辨认出原有的神经肌肉接点。此后仅让运动神经再生,阻止肌肉再生,结果发现,神经轴突可自然地寻找到没有肌纤维的空基膜上原来的突触位置,并在此处分化成外形正常的神经末梢。这说明,接点基膜本身具有引导神经末梢再生的能力。反之,如果让肌肉再生,而阻止神经再生,结果发现,再生的肌肉不仅合成了乙酰胆碱受体,而且可将受体在无神经的情况下汇集到接点部位(图 5-23)。因此,接点处的基膜对肌细胞质膜上的乙酰胆碱受体具有定位调控作用。很明显,接点基膜对两种细胞中形成神经接点的成分具有空间结构调

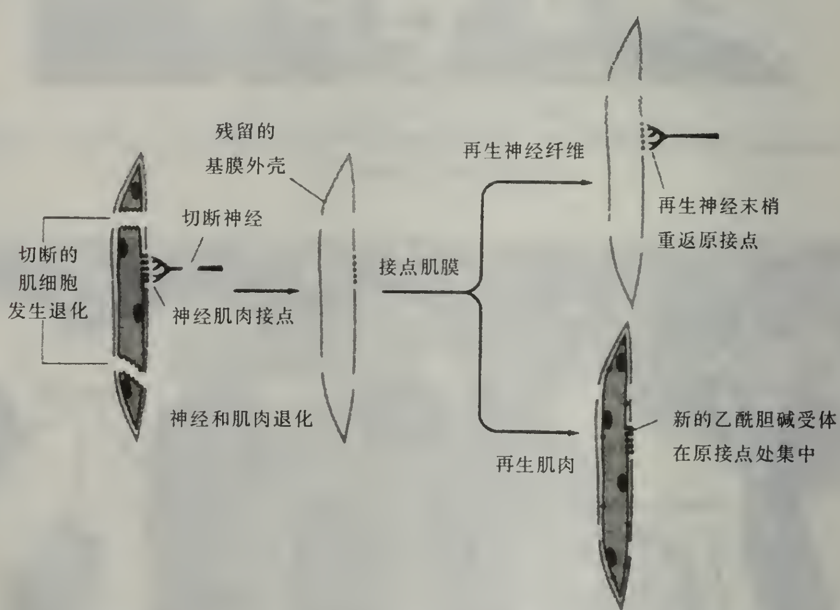


图 5-23　再生实验中神经肌肉接点处再生现象图解(说明见正文)

配作用。进一步研究尚表明,接点基膜提取物中含有一种称为定位蛋白(agrin)的基质蛋白,这种蛋白质具有起动在质膜中装配突触的功能。运动神经元能合成定位蛋白和其他专一性的大分子,并将其聚集到发育中的神经肌肉接点处的基膜中。这些基质定位分子有助于突触连接的装配和稳定。其他类型的神经元也能合成定位蛋白,因此有可能在整个神经系统中,它都能指导突触的受体和其他突触后大分子的装配。

4)细胞导游。早期胚胎的形态发生过程中,广泛存在着细胞迁移现象,基膜在导引细胞迁移活动中发挥重要作用。有人发现,线虫(*Caenorhabditis elegans*)中,如果为基膜的层黏连蛋白编码的一个基因发生突变,即可阻断中胚层细胞和神经轴突沿表

皮基膜上的迁移途径。然而这只对沿背腹轴的迁移有影响,而对沿头尾轴的迁移无影响。

三、整联蛋白在细胞与细胞外基质相互关系中的作用

从前面我们所介绍的内容可以看出，细胞外基质与相邻细胞的生理关系甚为密切。它们的相互关系有着一定的结构基础,在这种结构关系中,整联蛋白(integrin)起着关键的作用。

整联蛋白是大多数基质蛋白,如胶原、纤连蛋白、层黏连蛋白等的受体。整联蛋白与细胞外基质的结合是受体与配体的结合关系。整联蛋白为一大类跨膜糖蛋白,外连细胞外基质(或细胞),内连细胞皮层的细胞骨架,因此它是后二者之间的跨膜桥梁。

(一)整联蛋白的分子结构

整联蛋白分子是由 α 和 β 两个亚基组成的异二聚体(图 5-24)。最初合成的 α 肽链为 140kDa，随后被切割成大小两条肽链，二者之间通过二硫键相连。小肽链穿膜，大肽链位于细胞外，大肽链的头端折叠成 3~4 个二价阳离子结合位点。β 肽链约为 100kDa,与 α 链形成非共价结合。整联蛋白与配体结合要依赖于二价阳离子 Ca^{2+}或 Mg^{2+}(因整联蛋白种类而异)。

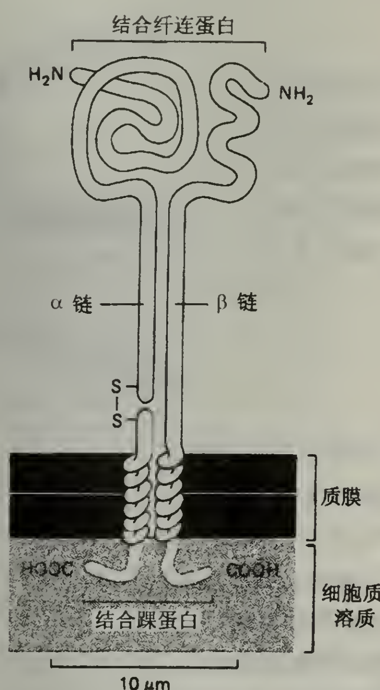


图 5-24　整联蛋白的分子结构示意图

很明显，接点基膜对两种细胞形成神经接点具有定位调控作用。因整联蛋白 RNA 切割方式不同,而导致产生不同的亚基。因而 9 种 β 亚基和 14 种 α 亚基可组合成 20 几种整联蛋白异二聚体，从而使整联蛋白的类别多样化。如 $β_1$ 至少可同 9 种 α 亚基形成异二聚体。不同的异二聚体具有不同的性能,如 $α_5β_1$ 是纤连蛋白的受体；$α_6β_1$ 是多种细胞的层粘连蛋白的受体。而 $β_2$ 亚基可同 3 种 α 链形成异二聚体，$α_Lβ_2$ 称为 LFA-1(lymphocyte function associated),它是 T 淋巴细胞上的整联蛋白,被激活后可同靶细胞紧密结合；$α_Mβ_2$ 称为 Mac-1(macrophage)，是存在于巨噬细胞上的整联蛋白。$β_2$ 整联蛋白主要介导细胞间发生相互作用。在炎症部位,$β_2$ 整联蛋白能介导白细胞与血管内皮细胞结合,使白细胞穿出血管。

（二）整联蛋白的功能

1. 细胞外基质与细胞骨架连接的桥梁

整联蛋白在质膜外可同细胞外基质结合，有的整联蛋白只能同一种基质大分子结合，如只同纤连蛋白或层黏连蛋白结合；有一些整联蛋白则可同几种基质蛋白分子结合，如成纤维细胞上的整联蛋白既可同胶原结合，也可同纤连蛋白和层黏连蛋白结合。整联蛋白的细胞内部分通过踝蛋白和 α 辅肌动蛋白与应力纤维（stress fibers）（肌动蛋白丝束）相连接。这种结构联系，使细胞外基质与细胞骨架建立了联系，可以相互影响（图 5－25）。

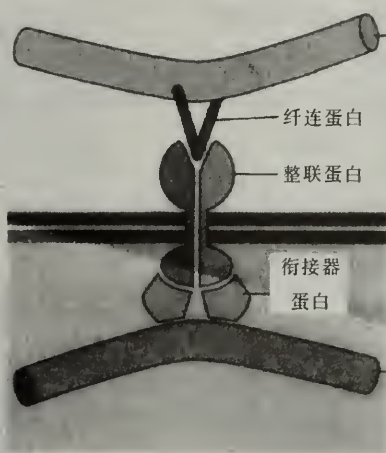


图 5－25　整联蛋白在细胞外基质与细胞内骨架之间起桥梁连接作用

转化细胞（transformed cell）（具有癌细胞性质的突变细胞）合成的纤连蛋白比较少，故不容易与基底物结合，也不能变扁，细胞内的肌动蛋白丝束也不能装配成应力纤维，这是癌细胞易于脱离原发部位发生转移（metastesis）的重要原因。反之，细胞内的肌动蛋白丝也能影响分泌到细胞外的纤连蛋白分子的排列。在培养的成纤维细胞中发现，纤连蛋白都是沿细胞表面排列，排列方向与细胞内应力纤维一致。如果用细胞松弛素处理细胞，破坏了细胞内的肌动蛋白丝，则细胞外的纤连蛋白即与细胞表面解离，与有丝分裂时细胞变圆发生的变化一样。细胞外基质与细胞骨架间的相互影响是通过整联蛋白实现的。

整联蛋白如果失活，则会解除基质与细胞骨架的相互关联。例如在有丝分裂期，β_1 整联蛋白细胞质端的一丝氨酸残基发生磷酸化，损伤了整联蛋白与纤连蛋白的结合能力，引起细胞变圆，脱离基底物。同样，在癌细胞中，同纤连蛋白相结合的整联蛋白的细胞质尾端，一酪氨酸残基发生磷酸化，降低了整联蛋白分子同踝蛋白（talin）的结合能力，导致癌细胞不易与纤连蛋白黏合。

2. 激活细胞反应

整联蛋白与基质的结合总是处于黏着状态，但是血细胞上的整联蛋白则不同，它只有在被激活后才能介导细胞黏合。例如，当血小板受到损伤血管或其他信号的刺激时而被激活，启动了细胞内的信号传递途径，随即激活了血小板膜上的 β_3 整联蛋白，整联蛋白发生了构象变化，引起其细胞外部分与血纤蛋白原(fibrinogen)紧密结合，从而使血小板凝集，形成了血凝块。又如，T 淋巴细胞同抗原递呈细胞或受病毒感染细胞的表面专一抗原发生微弱结合后，启动了 T 细胞内部的信号传递途径，迅即激活了 T 细胞的 LEA－1 整联蛋白。激活的整联蛋白使 T 细胞与靶细胞发生暂时性的紧密结合，这样 T 细胞便有足够的时间接受刺激。激活的 T 细胞或参与一系列 T、B 细胞的免疫反应(如辅助 T 细胞)，或直接引起靶细胞凋亡(如细胞毒 T 细胞)。随后整合蛋白失活，T 细胞从靶细胞表面脱离。

3. 激活细胞内信号传递级联途径

整联蛋白在细胞同细胞外基质或其他细胞的接触部位发生群集，可激活细胞内某些信号传递途径，例如激活肌醇磷脂途径和引起细胞内某些蛋白质（包括酪氨酸激酶）的酪氨酸残基磷酸化。信号传递要求整联蛋白和生长因子受体协同作用，才能引起细胞发生反应，如果细胞不通过整联蛋白与细胞外基质结合，生长因子则不能刺激细胞增殖。细胞外基质影响细胞的各种活动，如形状、极性、运动、代谢、发育和分化等，都是要通过整联蛋白。整联蛋白激活的信号传递途径，最后大都要影响到基因表达。

第二节　植物细胞壁

在真核细胞中，植物细胞与动物细胞最主要的差别是，植物细胞具有厚而硬的细胞壁(cell wall)。无论从化学组成、结构，还是发生来源来看，植物细胞壁相当于动物组织中的细胞外基质，故我们在本章中对其介绍。在结构上，植物细胞壁要比动物的细胞外基质简单一些，然而它的存在对植物细胞的生命活动极其重要。细胞壁有一个作用是对抗细胞的膨压，故它具有很强的机械抗张力，正像汽车轮胎的外胎要对抗内胎的膨胀压一样。此外，细胞壁对植物细胞的生长、发育、分化和物质代谢至关重要。例如，在原生质体(protoplasts)培养中即显示出细胞壁的重要性。脱壁的植物细胞称为原生质体，通过适当的培养可再生植株。实验发现，原生质体只有再生出细胞壁之后，才能生长和分裂。植物细胞吸收外界物质要穿过细胞壁，经检测，水、离子和小分子可穿过细胞壁。

细胞壁的结构和组成

(一)细胞壁的结构和组成

细胞壁由外向内分为中胶层（middle lamella）、初生壁（primary wall）和次生壁

(secondary wall)(叶肉细胞缺少次生壁)(图 5-26)。

中胶层的主要成分是果胶质(pectic substances)(果胶酸镁和果胶酸钙)。果胶质是可溶性多糖,由 D－半乳糖醛酸、L－阿拉伯糖和 D－半乳糖组成。果胶质在相邻细胞间使细胞黏合在一起。如果用果胶酶或 Ca^{2+} 螯合剂分解果胶质,可导致细胞散离。

初生壁是指细胞在生长过程中形成的细胞壁，含果胶质较少。细胞停止生长后,继续长出的细胞壁称为次生壁,含果胶质很少。细胞壁含有多层,由纤维结构组成。在电镜下细胞壁的可见单位为微原纤维(microfibrils)(图 5－27)。构成微原纤维的化学成分为多糖类物质，主要为纤维素，此外尚有半纤维素（hemicellulose)、木质素(lignin)、果胶(pectin)和结构蛋白等。这些物质通过共价键和非共价键结合,形成多层结构。

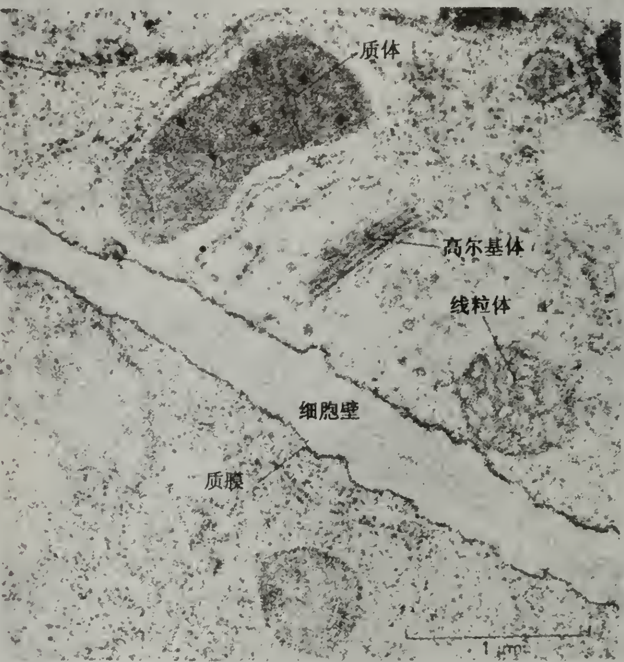


图 5－26　十字花科植物根尖两个细胞间的初生壁电镜图

纤维素分子是由 D－葡萄糖残基聚合而成的带状不分支糖链。链中的葡萄糖残基以 β(1～4)糖苷键连接成纤维二糖单元,纤维素分子即是由纤维二糖单元重复连接而成(图 5－28),每条分子链约含 500 多个纤维二糖单元。通过 β(1～4)糖苷键连接而成的纤维素分子不易被一般水解酶所水解，脊椎动物消化道自身不分泌消化纤维素的水解酶。纤维素分子链间通过氢键结合成束,约 60～70 条分子链组成一条微原纤维,组成微原纤维的纤维素分子链极性排列一致。微原纤维平行排列成片层(图 5－29),相邻微原纤维的间距约为 20～40nm。微原纤维之间和片层之间有长的半纤维素分子相连。细胞壁中尚含有 10% 的糖蛋白,其中主要的一类为伸展蛋白(extensins),伸展蛋白在糖分子链间起连接作用,增强了细胞壁的弹性和韧性(图 5－30)。

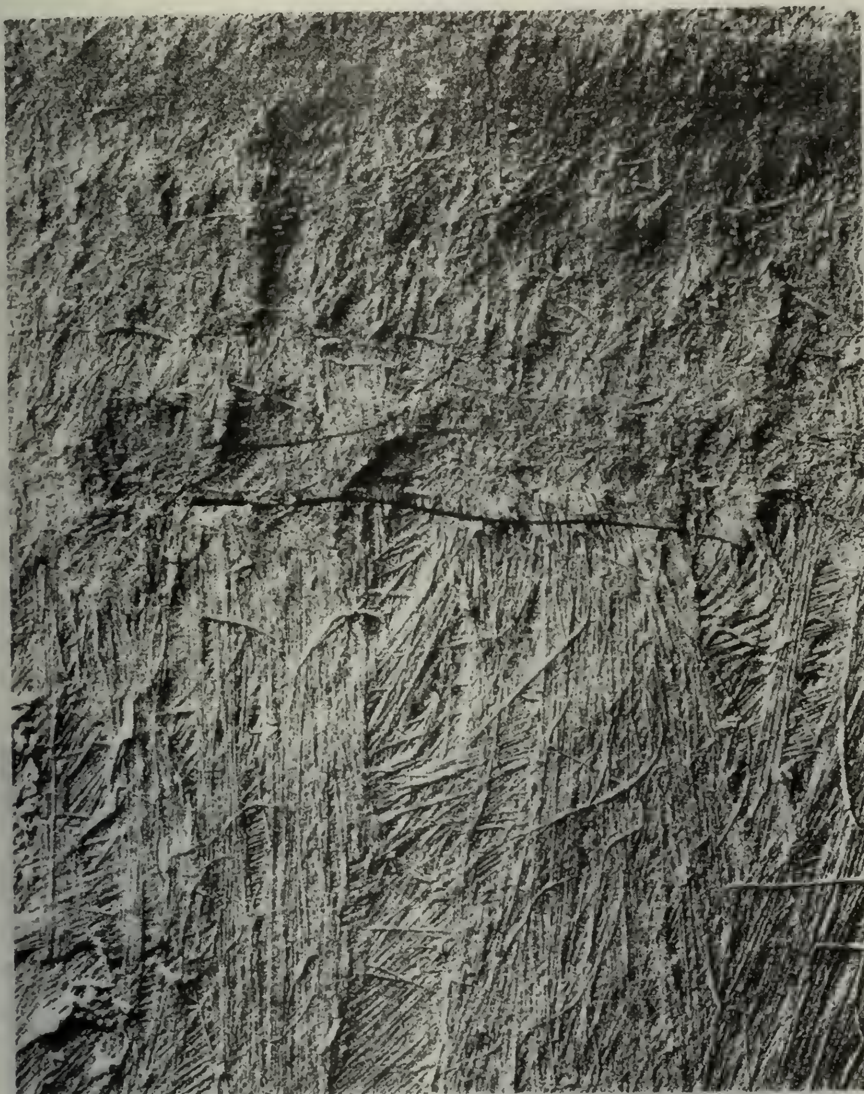


图 5－27　巨型藻－法轮藻(*Valonia*)细胞壁的冰冻断裂电镜图

图的上半部示初生壁的微原纤维、结构不规则；下半部为次生壁的微原纤维，结构有序。

×17 500(自 Itoh, T. and Brown, R. M. Jr. 1986)

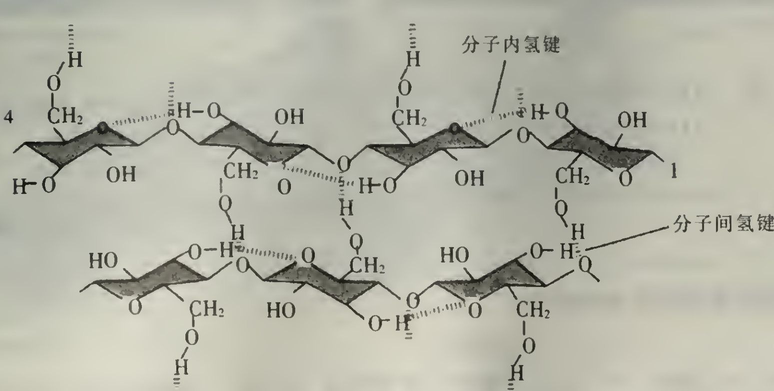


图 5－28　纤维素的分子结构

分子中以 1,4－β－糖苷键连成多糖链，有的植物的纤维素由 1,3－β－糖苷键连接而成

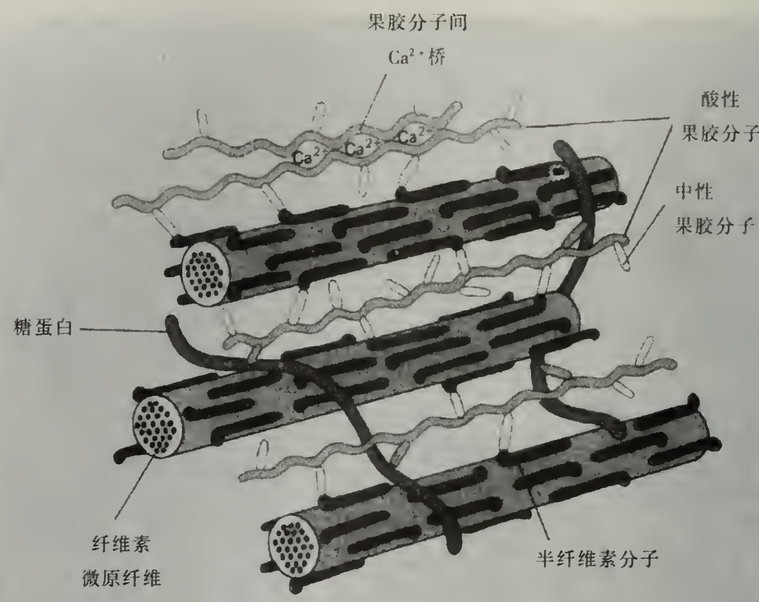


图 5－29　纤维素分子形成微原纤维结构的方式

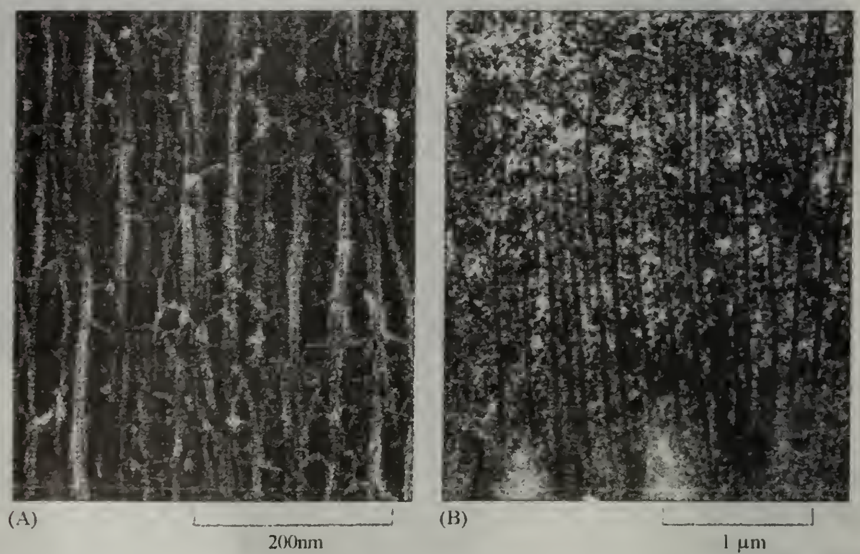


图 5－30　胡萝卜细胞初生壁中纤维素微原纤维的排列方式(转引自 Alberts, B. et al.　1998)
(A)为冰冻蚀刻电镜图,微原纤维大体呈平行排列方式,方向与细胞纵轴垂直,
微原纤维之间由基质分子横桥相连(自 Wells, B.　and Roberts, K.);(B)质膜
下方的微管呈平行排列,细胞外微原纤维的沉积方向与微管的导向有关(自 Gunning, B.)

(二)细胞壁物质的分泌和沉积

细胞有丝分裂末期,在赤道面部位纺锤体微管组成了成膜体(phragmoplast),此结构相当于动物细胞有丝分裂末期形成的中间体(midbody)。成膜体中尚有从高尔基体

沿微管运送过来小泡,小泡中含有果胶质等分泌物。小泡在赤道面中央排列成片,并相互融合成大的扁囊,囊中的物质形成了细胞板。但小泡融合成的扁囊并不完整,留有一些小孔,随后小孔发育成胞间连丝。随着融入的小泡数量的增加,细胞板继续向四周延伸,最后细胞板与细胞原有的细胞壁垂直相接,从而将细胞隔成了两个子细胞,囊膜便成了子细胞质膜的一部分,而细胞板即成了两个子细胞间的中胶层。子细胞随着生长,仍不断向细胞外分泌糖核苷酸单体。质膜上结合有纤维素合成酶复合物 (cellulose synthase complex),它可利用糖核苷酸单体合成纤维素分子。纤维素分子具有一定的刚性,可在细胞表面上呈直线延伸。

(三)微管对纤维素分子合成的导向作用

细胞壁中每一层微原纤维均各按一定方向平行排列,研究表明纤维素分子排列的方向性是受细胞皮质(cortex)中的微管控制。皮质中邻近质膜的微管有秩序排列,组成皮质排列(cortical array)方式,微管通过性质不明的蛋白质与质膜相连。在质膜外纤维素分子合成过程中,其延伸方向恰与质膜内的皮质微管排列相对应(图 5-31)。实验发现,如果用微管破坏剂,如秋水仙素,处理植物组织,使皮质微管系统解聚,则引起纤维素分子不规则沉积,并失去了片层间的方向交叉。细胞壁在正常形成时,新形成片层的微原纤维在方向上总是与前一层有所交叉(图 5-32),大致成垂直向。有证据表明,这种方向的改变也是受微管的调控,皮质微管通过解聚和重装配过程发生方向改变,微原纤维的沉积方向亦随之改变。纤维素合成酶复合物与质膜内侧的皮质微管有连桥关系,它在合成纤维素分子时即是按微管确定的方向沿质膜迁移。纤维素分子一边合成,一边即自我装配成微原纤维。每条微原纤维的远端与前一层壁物质交联在一起,微原纤维具有很强的刚性,同一层中的微原纤维平行排列。据认为,皮质微管方向的改变可能是对细胞外刺激因子的反应,例如乙烯(ethylene)和赤霉素(gibberellic acid)等低分子量生长因子的影响,与微管装配方向的改变有关。

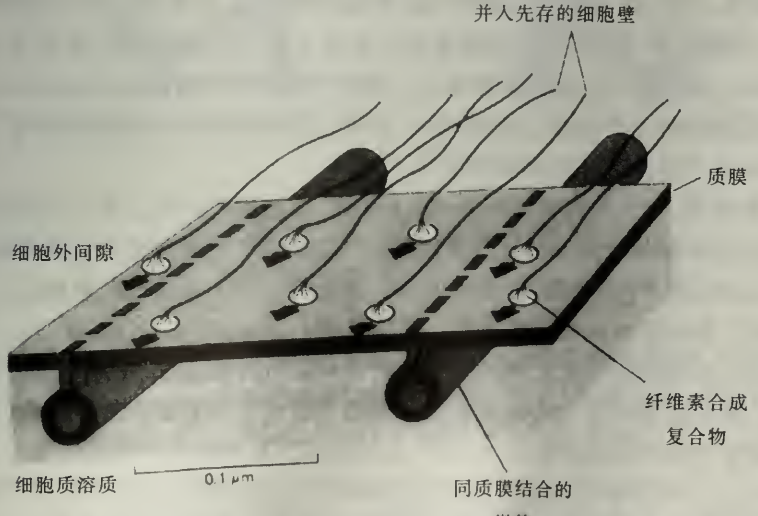


图 5-31 细胞皮层微管的排列方向对纤维素微原纤维沉积的导向作用图解

纤维素合成酶复合物为膜整合蛋白,催化纤维素在质膜外表面合成微原纤维

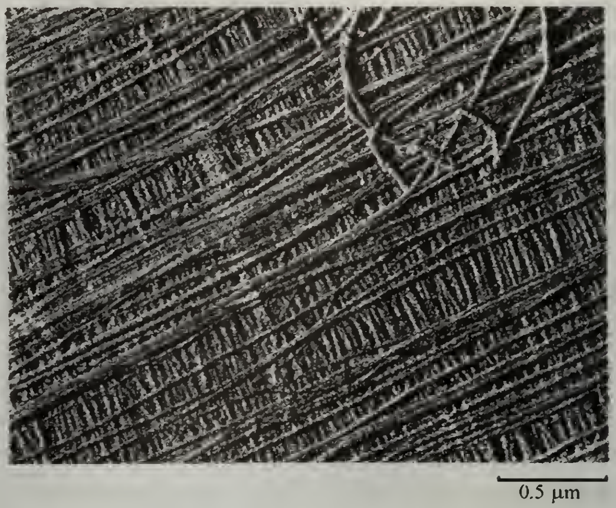


图 5-32　硬毛藻(*Chaetomorpha*)细胞壁结构电镜图
示不同层次间的微原纤维的排列方向相互交叉

第三节　细菌细胞壁

细菌是单细胞生物,不形成组织,故不具有高等真核生物中那种细胞外基质。但是在细菌细胞的外周亦具有由多糖类物质构成的硬细胞壁,类似于植物细胞的细胞壁。然而细菌细胞壁的构成成分不是纤维素,而是肽聚糖。

细菌细胞壁的化学成分是由双糖单元组成的多糖链,双糖是由两种糖的衍生物构成,即 N-乙酰葡糖胺(N-acetylglucosamine)和 N-乙酰胞壁酸(N-acetylmuramic acid)。双糖单元以 β(1~4)糖苷键连接成了大分子。多糖链之间又由一些由 4~5 个氨基酸残基组成的横向短肽链相连,形成了肽聚糖(peptidoglycan)片(图 5-33)。肽聚糖片中的多糖链在各物种中都一样,而横向短肽链却有种间差异。肽聚糖片可像胶合板一样,黏合成多层。革兰氏阳性菌(如链球菌)的细胞壁较厚,约由 15~50 层肽聚糖片组成,厚约 15~80nm。革兰氏阳性菌细胞壁的肽聚糖含量与阴性菌不同,前者为 90%,而后者只有 10%。细胞壁中还杂有其他成分,如蛋白质、多糖和垣酸(teichoic acid)。其中有许多成分是免疫特异性物质,如链球菌 C 多糖。垣酸与质膜或肽聚糖层结合,垣酸结合其他成分构成了细菌重要的表面抗原。

革兰氏阴性菌,如大肠杆菌(*Escherichia coli*),细胞壁的结构比革兰氏阳性菌更要复杂。革兰氏阴性菌的肽聚糖层比较薄,只有 1~2nm 厚,不含垣酸。在肽聚糖层外面有一层由蛋白质、糖蛋白和糖脂构成的磷脂双层外膜。介于外膜与肽聚糖层之间尚有一层脂蛋白层,使外膜与肽聚糖层中的二氨庚二酸(diaminopimelic acid)结合,从而使外膜保持稳定。从质膜到外膜之间的空间称为质周隙(periplasmic space)(图 5-34)。外膜的功能是,防止质周隙蛋白质散失和保护细菌免遭外来水解酶、毒性物质(如胆汁)的侵害。外膜中含有许多脂多糖分子,分子的脂类成分是细菌具有毒性的部分,称为内毒素(endotoxin)。而其暴露在细菌表面的多糖部分具有不同的末端序列,是细菌主要的表面抗原,在临床上可作为检测革兰氏阴性菌的指标。外膜中含有孔蛋白(porins),其肽链经 16 次 β 折叠在膜中形成了亲水筒,可让相对分子质量达 600 的亲水性溶质

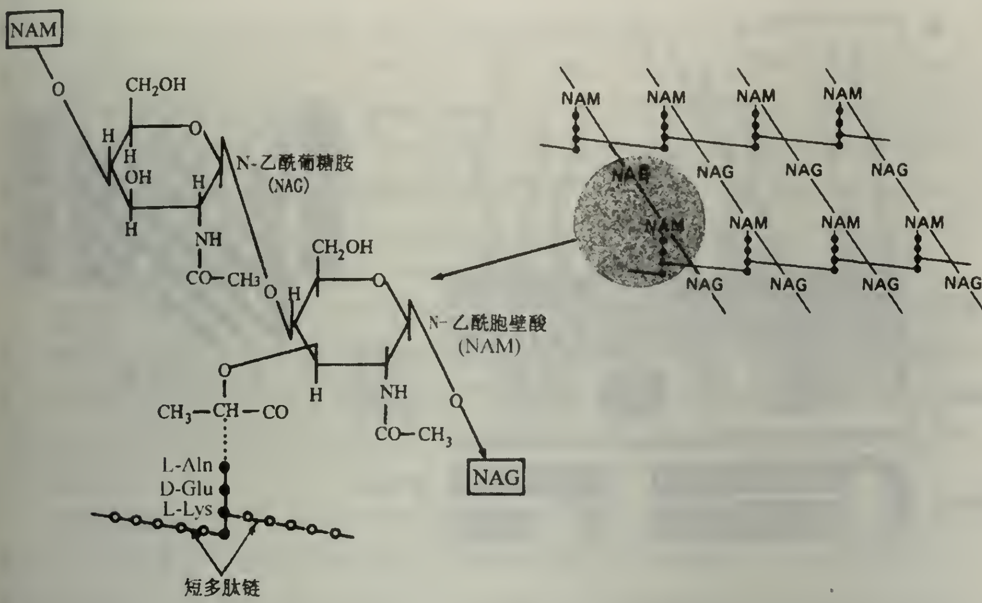


图 5-33 细菌细胞壁的肽聚糖片结构图解
L-Aln, 丙氨酸; D-Glu, 谷氨酸; L-Lys, 赖氨酸

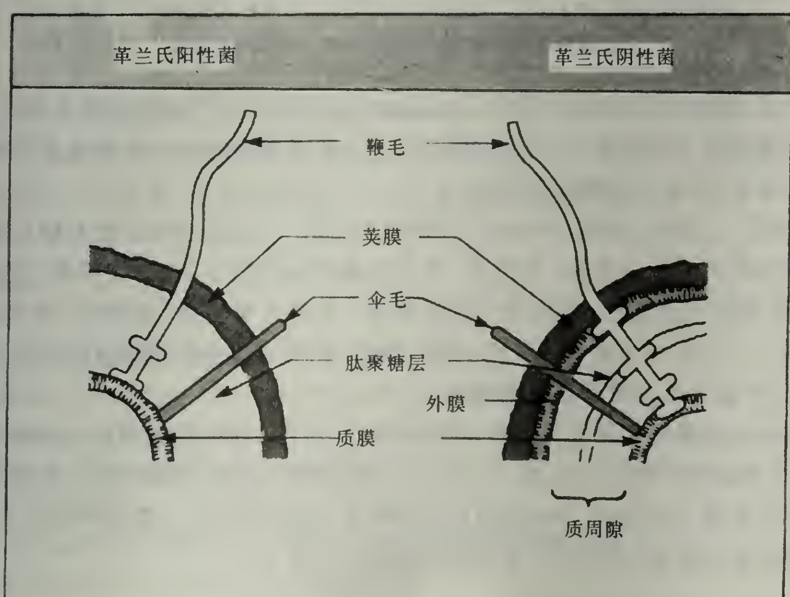


图 5-34 革兰氏阴性菌与革兰氏阳性菌细胞壁结构的比较

经扩散穿过外膜。线粒体和叶绿体的外膜中亦含有孔蛋白(图 5-35)。

许多细菌的最外表还覆盖着一层多糖类物质，结构明显的称为荚膜(capsule)，如肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae*)；边界不明显的称为黏液层(slime layer)，如葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)。

荚膜对细菌的生存具有重要意义，细菌不仅可利用荚膜抵御不良环境；保护自身不受白细胞的吞噬；而且能有选择地黏附到特定细胞的表面上，表现出对靶细胞的专

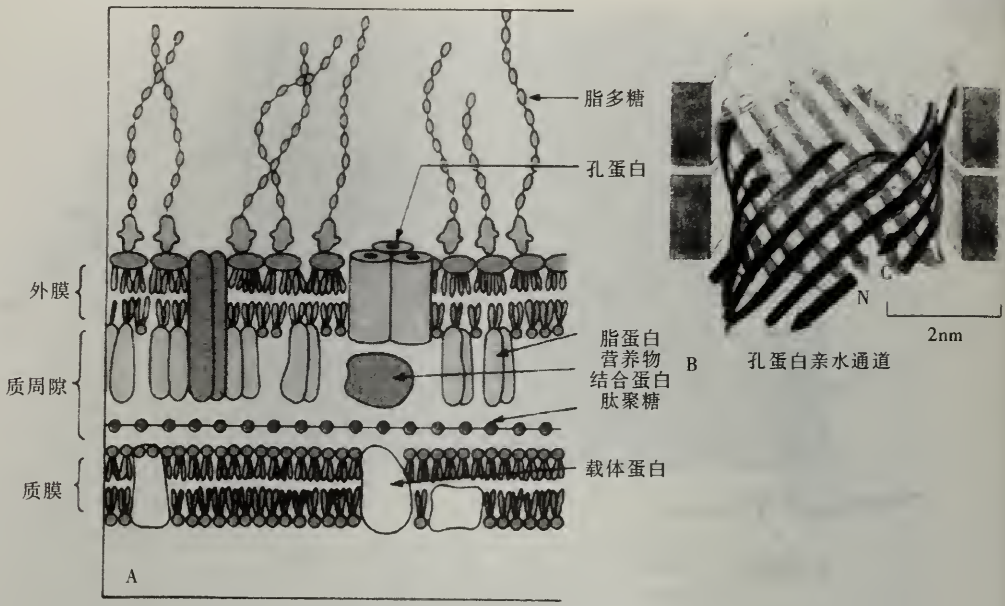


图 5-35　革兰氏阴性菌细胞被膜的分子结构图解

A. 外膜为脂双层结构，膜中有由孔蛋白构成的亲水孔，脂多糖的糖链伸向外表，糖链是细菌的主要末抗原。外膜与肽聚糖层间为质周隙，质周隙中有一脂蛋白层；B. 细菌孔蛋白分子以 16 股 B 片围成穿膜亲水通道

一攻击能力。例如，伤寒沙门杆菌(*Salmonella typhi*)能专一性地侵犯肠道淋巴组织，其专一性的黏附能力同样具有分子识别的性质。细菌荚膜的纤丝还能把细菌分泌的消化酶贮存起来，以备攻击靶细胞之用。

由此可见，荚膜与细菌的毒性有着密切的关系。Satton(1964) 曾对肺炎球菌荚膜与细菌毒性的关系做过实验，他发现，向小鼠腹腔内注射 1～5 个带荚膜（平滑型）的细菌，即可致使小鼠死亡；但如果注射的是同一菌株不带荚膜（粗糙型）的细菌，则需要 1×10^8～2×10^8 个活菌才能致死小鼠。因此，研制出针对抑制荚膜物质合成的抗生素，将会更有效地杀灭带荚膜的致病菌。

细胞壁对细菌的生存至关重要，细胞壁的功能是：保持细胞外形；抑制机械和渗透损伤；介导细胞间相互作用；防止大分子入侵；协助细胞运动和分裂。脱壁的细胞称为细菌原生质体（bacterial protoplast）或球状体（spheroplast）（脱壁不完全），变成球形。脱壁后的细菌原生质体，生存和活动能力大大降低。

提　　要

动物组织中，特别是结缔组织中在细胞外存在着大量的由多糖和蛋白质构成的细胞外基质。细胞外基质可影响细胞的发育、极性和行为活动。基质中含有由糖胺聚糖(GAG)链构成的网络，形成了水化凝胶，各种蛋白质纤维埋藏于凝胶之中。GAG 多糖链带负电荷，同蛋白质共价结合形成蛋白聚糖。在细胞表面上也有作为辅受体的蛋白聚糖，介导细胞结合到细胞外基质上，并使细胞对生长因子发生反应。

在功能上，基质中的纤维形成蛋白大致可分为两类：一类起结构作用，如胶原和

弹性蛋白;另一类是起黏合作用,如纤连蛋白和层黏连蛋白。纤维型胶原(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅴ和Ⅺ型)形成三股螺旋绳状分子。绳状分子排列高度有序,组合成原纤维。原纤维表面上结合有原纤维结合胶原分子,如Ⅸ和Ⅻ型胶原。Ⅳ型胶原将胶原分子装配成片层网架,形成了成熟基膜的主要结构。弹性蛋白在基质中形成了交联网络,增强了基质的弹性和韧性。基膜中尚含有层黏连蛋白、内联蛋白、渗滤素等。纤连蛋白广泛分布于结缔组织中,而层黏连蛋白主要存在于基膜中。起黏合作用的蛋白分子链包含多个功能结合区,可分别同基质中其他分子和细胞结合。

整联蛋白是细胞表面上的基质受体,分子为由 2 个跨膜糖蛋白亚基组成的异二聚体。它可介导细胞外基质与细胞内的肌动蛋白丝双向相互作用,纤连蛋白和某些基质蛋白的肽链中的 RGD 序列可被整联蛋白所识别,并与之结合。在结构上,它是二者之间的桥梁;在功能上起信号转换器的作用,细胞外信号经整连蛋白激活细胞内各种信号传递途径。

植物细胞外面包围一层硬的细胞壁,成为植物的细胞外基质。细胞壁主要由纤维素组成。纤维素分子是由纤维二糖连接成的多糖链,若干纤维素分子组成微原纤维。细胞壁是由若干层方向交错的微原纤维片层组成。纤维素分子的合成方向受细胞皮质中的微管的控制。细胞壁不仅是植物细胞的一堵围墙,更重要的是它与植物细胞的生长、发育、分裂、分化以及物质吸收都有极为密切的关系。

细菌细胞壁中的主要成分是肽聚糖。肽聚糖层是由 N－乙酰葡糖胺和 N－乙酰胞壁酸二糖单元连接成的糖链构成。革兰氏阳性菌的肽聚糖层较革兰氏阴性菌为厚。在功能和组成结构上,细菌细胞壁与植物细胞壁有类似之处。革兰氏阴性菌细胞壁的结构更为复杂,在肽聚糖层之外尚有一脂双层外膜,外膜脂多糖伸出的糖链具有细胞表面抗原性。外膜中的孔蛋白构成了亲水孔。有些细菌在一定条件下,外表形成一层由多糖类物质组成的荚膜,荚膜对细菌的生存和毒性具有重要作用。

复习思考题

1. 细胞外基质与细胞外被有何区别?它们如何相互作用?
2. 动物结缔组织中的细胞外基质都包括哪些成分?各起何作用?
3. 胶原纤维的装配过程都经过哪些步骤?
4. 纤连蛋白分子有哪些结构特点?如何发挥作用?
5. 为什么说整联蛋白(integrin)起信号转换器的作用?
6. 动物细胞外基质与植物细胞壁、细菌细胞壁在结构组成上有哪些共性?
7. 细胞外基质是否可看作是细胞自我营造的微环境?

主要参考文献

蔡　婷,查锡良,1999. 整联蛋白与生长因子受体信号转导通路间的"串话". 生命的化学,19(6):257～260
宋今丹,1993. 医学细胞生物学. 北京:人民卫生出版社,100～106
谭曾鲁,周柔丽,1992. 医学细胞生物学. 北京:北京医科大学、协和医科大学联合出版社,83～109
汪堃仁,薛绍白,柳惠图,1998. 细胞生物学(第二版). 北京:北京师范大学出版社,389～408
Alberts, B, Bray, D., Lewis, J. *et al*., 1994. Molecular Biology of the Cell, 3 rd. ed. Garland Publishing, Inc., New York. 963～1006
Bolwell, G. P., 1993. Dynamic aspects of the plant extracellular matrix. Int. Rev. Cytol., 146: 261～324

Brown, R. M., 1985. Cellulose microfibril assembly and orientation: recent developments. J Cell Sci (Suppl. 2), 13 ~ 32

Chen, W. T., 1992. Membrane proteases: roles in tissue remodeling and tumour invasion. Curr. Opin. Cell Biol. 4: 802 ~ 809

Hynes, R. O., 1987. Integrins: a family of cell surface receptors. Cell, 48: 549 ~ 554

Hynes, R. O., 1992. Integrins: versality, modulation, and signaling in cell adhesion. Cell, 69: 11 ~ 25

Juliano, R. L., 1992. Haskill S. Signal transduction from the extracellular matrix. J Cell Biol, 2: 304 ~ 308

Mechem, R. P., Heuser, J. E., 1991. The elastic fiber. In Cell Biology of Extracellular Matrix(Hay E D. ed.). New York: Plenum Press, 79 ~ 110

Murray, P. R, Lawrence W, Kohayashi, G. *et al.*, 1990. Medical Mirobiology, St. Louis: The C. V. Mosby Company, 6 ~ 9

Ruoslahti, E., Pierschbacher, M. D., 1987. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. Science, 238: 491 ~ 497

Ruoslahti, E., Yamaguchi, Y., 1991. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. Cell, 64: 867 ~ 869

Solowska, J. *et al.* 1993. Expression of normal and mutant avian integrin subunits in rodent cell. J Cell Biol, 5: 819 ~ 831

Stopak, D., Harris, A. K., 1982. Connnective tissue morphogenesis by fibroblast traction I. Tissue culture observation. Dev Biol, 90: 383 ~ 398

Varner, J, E., Lin, L. S., 1989. Plant cell wall architecture. Cell, 56: 231 ~ 239

Wight, T. N., Kinsella, M., G., Qwarnstrom E E., 1992. The role of proteoglycans in cell adhesion, migration and proliferation. Curr Opin Cell Biol, 4: 793 ~ 801

Yurchenco, P. D., Ruben, G. C., 1987. Basement membrane structure *in situ*: evidence for lateral associations in the type Ⅳ collagen network. J Cell Biol, 105: 2559 ~ 2568

第六章

内质网和核糖体

细胞质(cytoplasm)是指细胞膜以内除细胞核(或类核)以外的成分。原核细胞仅含有一个由质膜包围的空间,而真核细胞则大不相同。一个真核细胞内往往由膜分隔成多个特定空间,从而把细胞质区分成了多个特异性的功能区,而每个功能区——细胞器均含有其自身特异性的酶和其他特定的成分。因此,对于一个真核细胞来说,其细胞质又包括液态的细胞质基质(cytoplasmic matrix, cytomatrix)、各种细胞器和各种内含物。细胞质基质又称为胞质溶质(cytosol),为细胞质内除细胞器和内含物以外的、较为均质和半透明的胶状物质,在为各种生化反应提供适宜环境和维持细胞内环境稳定性等方面具有非常重要的作用。细胞器有好多种,具有界膜的细胞器,如内质网、高尔基复合体、溶酶体、过氧化物酶体、线粒体和叶绿体等,不具有界膜的细胞器,如核糖体、中心粒等,它们在细胞进行各种生命活动中各自发挥了不同而又相互关联的作用;内含物为一些有形成分,为细胞的代谢产物或储存的营养物质,如胶原、色素等。

在真核细胞的胞质中,除线粒体和叶绿体之外,还有一些由膜构成的细胞器,它们彼此相互关联,组成了一个庞大、精密而复杂的膜系统,为与细胞质膜(又称为外膜)区别,我们把这个由膜围成的小管、小泡和扁囊组成的系统称为内膜系统(endomembrane system)。它主要包括核膜、内质网和高尔基复合体三大部分,质膜、溶酶体和分泌泡均可看作是它的衍生物(图6-1)。而线粒体和叶绿体虽然也是由膜构成的细胞器,但它们含有自身的DNA,其功能活动和装配要受到核DNA和其自身DNA的共同调控,是一类半自主性的细胞器;而内膜系统则不含有DNA,其功能活动和装配完全要受到核DNA的控制。此外,各种内膜之间可通过出芽和融合的方式进行交流,而线粒体和叶绿体不参加这种方式的交流(图6-2)。因此,线粒体和叶绿体不属于内膜系统。

内膜系统是真核细胞完成各种复杂生命活动所必须的基本结构,也是不同于原核细胞的重要特征。真核细胞中,内膜系统大体上可把细胞质分隔为两大区域,即为内膜系统所包围的腔区和细胞质溶质区,因而也使每一层膜的两个面又有腔面和胞质面之分。内膜系统中的各种成分又分为更加精细的区域,从而使细胞质出现了高度分区化(compartmentalization)(图6-3)。从膜的发生上来看,内膜系统在形成上也具有一定的顺序相关性。首先是形成了由脂类和内在蛋白质组成的基本膜,以此为基础再有次序地添加上酶、专一性的糖或脂类,从而产生了不同的膜。这种膜经过修饰,在化学组成、结构和功能上产生差异的变化又称为膜分化(membrane differentiation)。内膜系统和质膜一样,也是一种动态结构,具有流动性、镶嵌性、不对称性和蛋白质极性。

内质网是由单层单位膜围成的呈扁平囊状或泡状的封闭管道系统,膜厚约5~6nm,按其胞质面是否结合有核糖体又分为糙面内质网(rough endoplasmic reticulum, RER)和光面内质网(smooth endoplasmic reticulum, SER)。内质网在蛋白质的合成与修

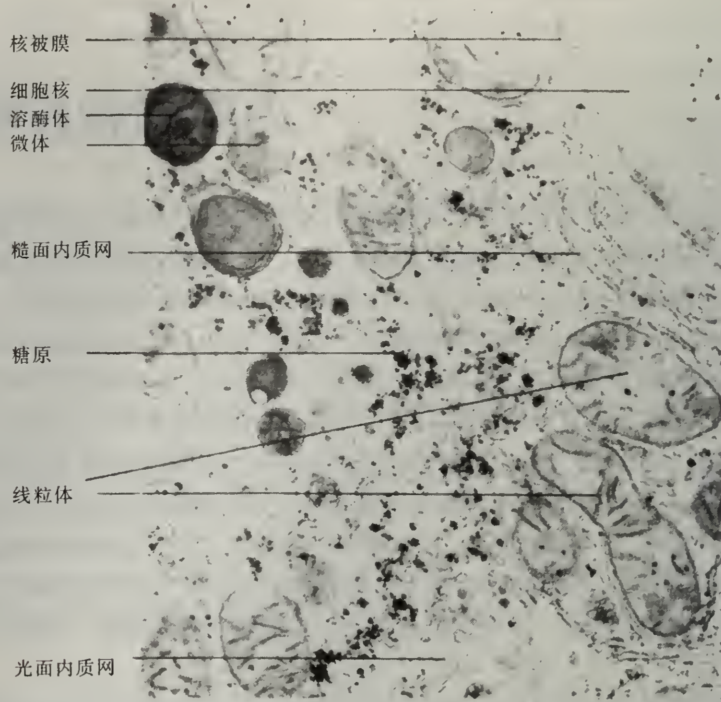


图 6－1　肝细胞的部分电镜图

示几种主要的细胞内膜成分(自 Alberts 1994)

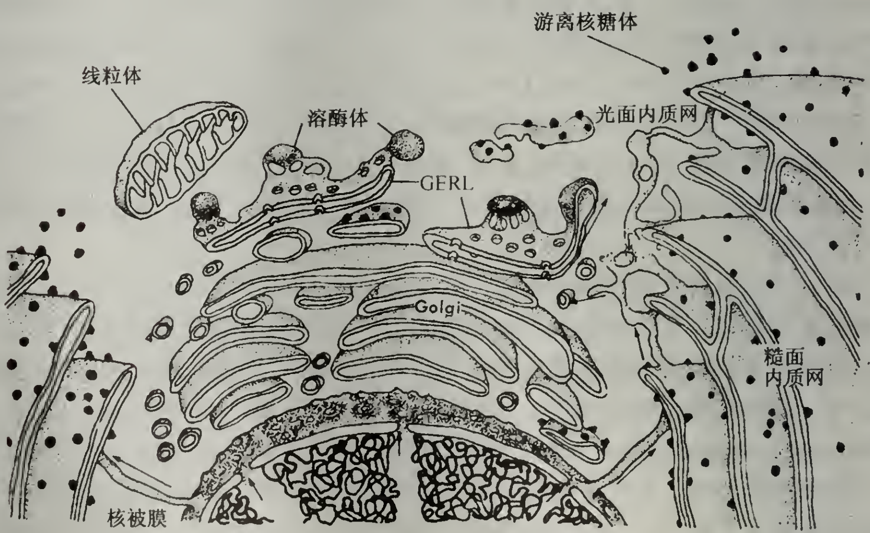


图 6－2　真核细胞内膜系统各成分之间的关系

内膜系统各种细胞器之间通过出芽、小泡融合而相互交流，但线粒体和叶绿体不参与此类交流

(自 De Robertis, E. P. D. and Robertis, E. M. F. 1987)

饰、膜的形成等方面具有重要功能。包围核的膜是由内外两层单位膜构成的膜系统，称为核被膜(nuclear envelope)，每层膜厚约 7～8nm。外层核膜的胞质面上也附着有核糖体，且与糙面内质网相连续。核被膜将细胞质分隔为胞质和核质两大区域，其上还

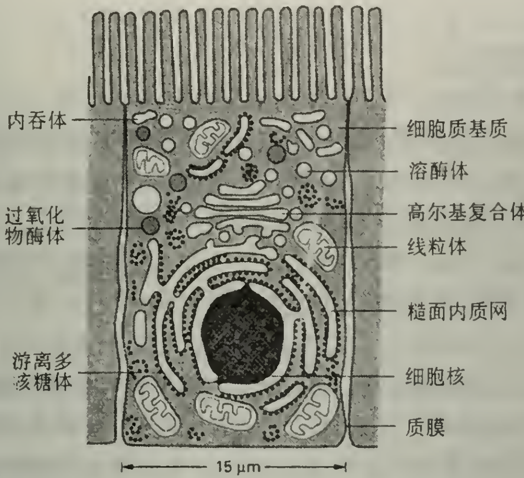


图 6-3 一个动物细胞模式图

示细胞内各种主要的细胞内分区(自 Alberts 1994)

规则地排列着具有复杂结构的核孔复合体,在胞质和核质进行物质交换和信息交流方面具有至关重要的生物学功能。高尔基复合体也是由单层单位膜围成的封闭管道系统,其基本结构是由呈扁平囊状的潴泡(cisterna)相互叠置而形成的分散高尔基网(dictyosome)。分散高尔基网在结构上具有极性,可分为形成面(顺面,*cis*)和成熟面(反面,*trans*)。从形成面到成熟面,膜的厚度由 6nm(似内质网膜)逐渐增加到 10nm(似质膜)。此外,在膜的化学组成上亦介于内质网与质膜之间。高尔基复合体在蛋白质的修饰、加工改造与分拣、分泌物的形成与包装、胞内的膜泡运输与膜的转化等方面具有重要功能。作为内膜系统的产物,溶酶体和微体也是由单层单位膜围成的封闭的泡状结构,溶酶体含有多种酸性水解酶,在细胞内消化、发育、植物种子萌发等方面具有重要作用;而微体根据其所含酶的种类不同又可分为过氧化物酶体和乙醛酸循环体。过氧化物酶体的标志酶为过氧化氢酶;乙醛酸循环体仅存在于植物细胞中,除含有过氧化物酶体的有关酶类外,还含有同乙醛酸循环有关的酶类,二者均能将一些非碳水化合物的物质转化为碳水化合物。

由此可见,内膜系统具有许多重要的生物学功能。此外,内膜系统在酶系统的隔离与连接、扩散屏障及膜电位的建立、离子梯度的维持、以及细胞内不同分区内差别 pH 值的形成等方面也具有非常重要的作用。

在内膜系统中,无论是在结构上还是在功能上,内质网都占据了中心地位。而内膜系统的各种组分又是悬浮在无定形的细胞质基质中的。要了解内膜系统,首先必须对其所处的微环境——细胞质基质有一个概括的认识。因此本章首先介绍细胞质基质、内质网以及与内质网密切相关的核糖体,随后几章将再讲述内膜系统的其他几种组分。

第一节 细胞质溶质

细胞质溶质(cytosol)即过去所称的细胞质基质(cytoplasmic matrix),主要是指细胞质内除细胞器和内含物以外的、较为均质半透明的液态部分。

一、细胞质溶质的成分

细胞质溶质含有的成分很多，据其大小可将其主要成分分为以下四类：

(1)水和无机离子等一些小分子。多数水分子为结合水，以水化物的形式结合在蛋白质或其他大分子表面的极性位点上，仅有部分作为溶剂的水分子呈游离态存在。无机离子包括 K^+、Na^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}和 Cl^-等。

(2)脂类、糖类、氨基酸、核苷酸及其衍生物等中等分子。中等分子的糖类包括葡萄糖、果糖和蔗糖等。

(3)蛋白质、脂蛋白、多糖和 RNA 等大分子。其中含有大量的酶，几乎包括了所有参与蛋白质合成的氨基酸激酶、合成 DNA 与 RNA 的酶、合成脂肪酸的酶和糖酵解所需要的酶。另外，构成细胞骨架的各种蛋白质成分和核糖体等均存在于细胞质基质中(图 6-4)。细胞质基质中的蛋白质含量约为 20% ~30%。如糖酵解途径、磷酸戊糖途径和脂肪酸合成途径都是在细胞质基质中进行的。

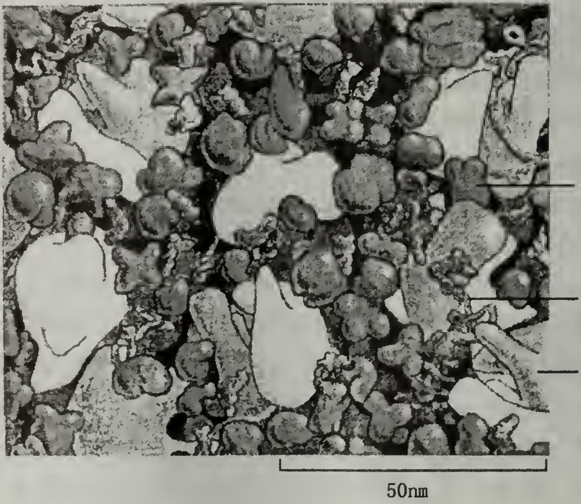


图 6-4 细胞质中几种主要组分模式图(自 Alberts 1994)

近年来的研究结果表明，细胞质溶质中的绝大多数蛋白质，甚至包括水溶性的蛋白质，并不是以溶解状态存在的。细胞质溶质中的大多数蛋白质均直接或间接地与细胞骨架或生物膜相连，以完成其特定的生物学功能。用免疫荧光技术观察的结果表明，与糖酵解有关的一些酶类是结合在微丝上的。此外，在细胞质基质中，蛋白质之间或蛋白质与其他大分子之间还可发生相互作用，形成多酶复合体等，其间的结合很可能是通过极弱的键进行的。如与糖酵解有关的一些酶类很可能相互之间结合形成了多酶复合体，而定位在细胞质溶质中的特定部位，有条不紊地催化从葡萄糖到丙酮酸的一系列生化反应。其他代谢途径之间很可能也是以此类似的方式进行的，以使复杂的代谢反应能相互协调，并能有序而高效地进行和完成。

由此可见，细胞质溶质是一个复杂但高度有序的结构体系，而在该体系的维持中，细胞骨架又起着必不可少的重要作用。细胞骨架的存在，使细胞质溶质中的各种大

分子均有其精密定位,使各种代谢途径之间相互协调、高效而有序地进行,以完成各种复杂的生命活动。

(4) 含有糖原等一些处于贮存状态的重要化合物。糖原是糖类的一种重要的储存形式,为葡萄糖的聚合体。在许多细胞中,糖原呈颗粒状存在,进行糖原合成和降解所需要的一些酶就结合在颗粒的外表面。

二、细胞质溶质的功能

细胞质溶质在细胞的物质代谢、维持细胞内环境的稳定性等方面具有重要作用。具体说来,细胞质溶质主要有以下四个方面的功能。

(一)中间代谢反应的进行

所有中间代谢都是在细胞质中进行的,其中大部分是在细胞质溶质中进行的,如糖酵解、核苷酸、脂肪酸和氨基酸代谢的一定阶段都是在细胞质溶质中完成的。糖酵解途径、磷酸戊糖途径、脂肪酸合成途径这三个主要代谢途径均是在细胞质溶质中进行的(图 6-5)。细胞质溶质为这些反应的正常进行提供了必需的微环境,且其中还含有进行这些反应所需要的多种前体物。此外,也含有合成其他细胞结构、完成其各种生命活动所需的大分子前体物。

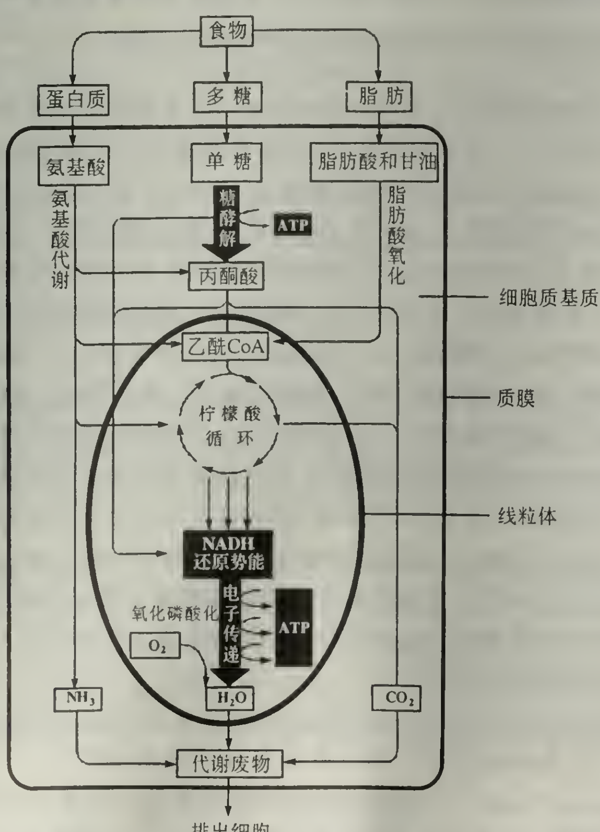


图 6-5 从摄取养料到排除废物整个代谢过程的图解

示细胞质溶质中的中间代谢反应,如糖酵解、氨基酸代谢和脂肪酸氧化

（二）细胞的形态与运动、胞内物质运输以及各种大分子的定位

作为细胞质溶质主要结构成分的细胞质骨架，不仅对细胞的形态、细胞的运动、细胞内的物质运输及能量传递具有重要作用，而且作为细胞质溶质这一结构体系的组织者，为细胞质溶质中的其他成分和细胞器提供了锚定位点，将生物大分子锚定在细胞质骨架三维空间的特定区域，从而使复杂的代谢反应能高效而有序地进行。涉及到细胞骨架方面的功能将在第九章作详细介绍。

（三）蛋白质的修饰与选择性降解

细胞质溶质在蛋白质的修饰与蛋白质的寿命控制方面也具有重要作用。细胞质溶质主要是通过选择性降解来调控蛋白质的寿命。

1. 蛋白质的修饰大多是在其侧链的特定位点上进行的

虽然目前对许多种修饰的生物学意义还不甚清楚，但侧链修饰对细胞的生命活动的确非常重要。在细胞质溶质中发生的蛋白质修饰主要有 N- 端甲基化、糖基化、酰基化、磷酸化、去磷酸化以及辅酶和辅基的共价结合等，这些修饰对维持和调节蛋白质的生物活性、进而使细胞能完成其各种生命活动等都具有非常重要的作用。

2. 细胞中的蛋白质处于一个不断地降解与更新的过程中

细胞质溶质中的蛋白质，大部分寿命较长，其生物活性可维持数天。但也有一些寿命较短，在合成后几分钟便被降解了，例如那些催化限速反应的一些重要的酶类、对细胞的生长及分裂具有重要功能的细胞癌基因（如 *fos* 和 *myc*）的产物、以及那些错误折叠、变性或不正常的蛋白质。经进一步研究发现，在蛋白质分子的氨基酸序列中，除含有决定蛋白质分子在细胞内定位的信号和与修饰有关的信号外，还含有决定蛋白质寿命的信号。该信号定位于蛋白质 N－端的第一个氨基酸残基，如果第一个氨基酸残基为甲硫氨酸（Met）、丝氨酸（Ser）、苏氨酸（Thr）、丙氨酸（Ala）、缬氨酸（Val）、半胱氨酸（Cys）、甘氨酸（Gly）或脯氨酸（Pro），则蛋白质不立即被降解，是稳定的；如果是其他的 12 个氨基酸，则很快被降解，是不稳定的。在细胞质溶质中稳定存在的蛋白质的 N－端从未发现有不稳定的氨基酸信号，但它们常常出现在被转移到其他区域（如内质网和高尔基复合体）的蛋白质的 N- 端，因为这些区域中没有细胞质基质那样的降解机制。非胞质蛋白 N- 端的不稳定氨基酸信号为细胞降解错误导向的蛋白质拷贝提供了一个简便的方式：即没有被及时运出胞质的那些蛋白质分子将被快速降解掉。在细菌中，也是利用单个氨基酸残基为信号来降解特定蛋白质的（关于分子伴侣对蛋白质折叠的作用，可参见第十四章）。

目前，对蛋白质的寿命的控制机制还了解甚少，这里面可能涉及到一个非常复杂的降解机制。在真核细胞中，蛋白质的选择性降解涉及了一个泛素依赖性途径（ubiquitin-dependent path）。在泛素化酶复合体的催化下，泛素可共价结合到带有不稳定氨基酸信号的蛋白质靠近 N－端的裸露 Lys 残基上，使该靶蛋白带有多泛素链，从而为蛋白酶所降解（图 6－6）。

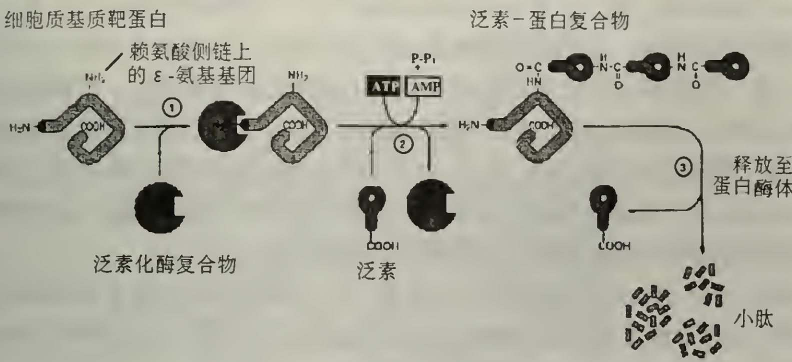


图6-6　泛素依赖性蛋白质降解示意图

第一步,泛素化酶复合物识别带有降解信号的靶蛋白;第二步,经一系列生化反应,泛素连接成多泛素链,并与靶蛋白的一个赖氨酸侧链上的ε-氨基基团相连接;第三步,最后,蛋白质小体将靶蛋白切割成许多小片段(自 Alberts 1994)

对于那些错误折叠或变性的不正常蛋白质，尽管其N-端带有稳定氨基酸信号，也会优先被泛素化，从而被选择性降解掉。由此可见，泛素在识别蛋白质的N-端的不稳定氨基酸信号以及错误折叠或变性等不正常信号、并准确地将蛋白质完全降解的过程中起到了必不可少的作用。

我们知道，每种蛋白质在开始合成时，N-端的第一个氨基酸残基均是甲硫氨酸或甲酰甲硫氨酸（fMet），但在合成后不久该氨基酸残基便被氨基肽酶水解掉了，然后再由氨酰-tRNA蛋白转移酶把一个信号氨基酸选择性地加到蛋白质的N-末端，最终在N-端加上了一个氨基酸残基。根据被加上的氨基酸残基的种类，从而决定该蛋白质是稳定的或是不稳定的。

此外，细胞质溶质不仅能依赖于一定途径快速地清除掉变性的或错误折叠的蛋白质，而且还能帮助变性或错误折叠的蛋白质重新折叠成正确的分子构象。

（四）维持细胞内环境（pH、离子环境）的稳定性

细胞质溶质对细胞的pH值具有缓冲作用，为各种中间代谢反应的进行提供了适宜的微环境，也为各种细胞器等正常结构的维持提供了所需要的离子环境。因此，细胞质溶质对各种中间代谢反应和细胞器正常结构的维持等具有十分重要的生物学作用。

综上所述，细胞质溶质作为一种液态基质，为各种中间代谢反应提供了所必需的微环境，同时对蛋白质的修饰及其寿命控制等也具有重要作用，其中的细胞骨架又是细胞的形态与运动、胞内物质运输、能量传递以及各种细胞器与大分子定位的分子基础。细胞内的各种细胞器通过其细胞骨架分别定位在细胞内的特定部位，如内膜系统中的内质网、高尔基复合体等。下面介绍内质网以及与其密切相关的核糖体。

第二节　内质网

内质网是发现较早的一种细胞器。早在1897年，Garnier在光学显微镜下发现，动

物体内分泌活动旺盛的胰腺和唾液腺细胞中有一个嗜碱性的特化区,在此区域中存在着条形和丝状结构。这种结构随细胞的活动而变化，细胞处于活跃状态时，丝状结构非常丰富，当细胞中形成大量酶原颗粒时，细丝几乎完全消失；这种结构还同动物的生理状态有关,高度饥饿的动物,胰腺细胞中的丝状结构消失,喂食后又重新出现。由此推测，胰腺与制造消化液有关，Garnier 把这种经常变化的结构称为动质(ergastoplasm)。Garnier 的报道，实际上是最早期对内质网的描述。这种嗜碱性丝状结构就是内质网结合着核糖体正在合成蛋白质的形态反映。

直到 1945 年，著名超微结构学家 K. R. Porter 等在电镜下对动质的形态结构进行了深入观察。他发现，在细胞质的内质区域中,分布着一些小管网,因而把其定名为内质网(endoplasmic reticulum, ER)。

一、内质网的形态结构

除哺乳动物的红细胞外,内质网在真核细胞中广泛存在。但至今仍无证据表明细菌细胞中具有内质网。虽未经正式验证， 但一般认为细胞中只有一个内质网。因而内质网为一连续系统， 以保证其在功能上具有连续性。

真核细胞经固定、超薄切片和染色后，在透射电镜照片上，内质网常呈平行的双层膜状，两层膜之间的宽距不等(图 6 – 7)。在三维立体结构上,内质网系由膜形成的一些形状大小不同的小管、小囊或潴泡(cisterna)构成的一个连续的网状膜系统，其内腔是相通的。潴泡是一些大而扁平的片状结构,为内质网的独有特征。膜向腔的一面称为腔面 (luminal face)，向胞质的一面称为胞质面 (cytoplasmic face) 或原生质面(protoplasmic face),后者相当于质膜的内表面(图 6 – 8)。

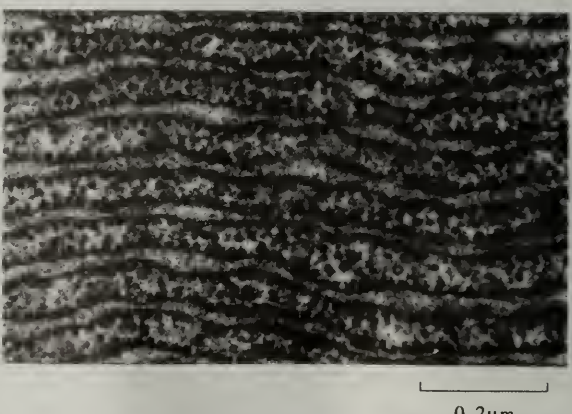


图 6 – 7　糙面内质网的电镜图像(自 Orci, L.　1994)

完整细胞内的内质网在细胞核周围形成了网状的三维结构,在细胞质内铺展成树枝状,形成了复杂的网络。根据形态的不同，内质网又分为两个区域,有些区域在其胞质面附着有核糖体，称为糙面内质网(rough endoplasmic reticulum, RER);另外一些区域无核糖体附着,称为光面内质网(smooth endoplasmic reticulum, SER)。这两种区域不仅在形态上有差异，而且在结构和功能上也不相同。一般来讲，有核糖体附着的内质网多为扁囊状，广泛存在于合成蛋白质的细胞中；而无核糖体附着的光面内质网多为

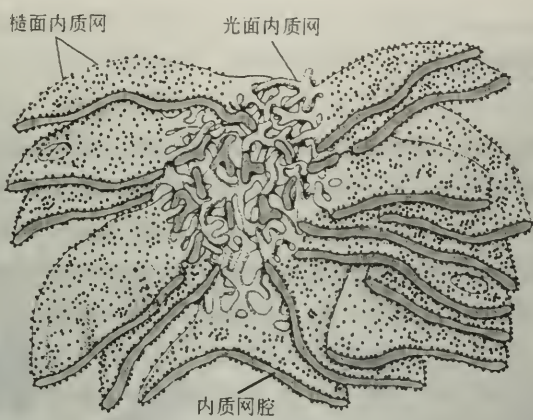


图 6-8　内质网的立体结构图解(自 Alberts 1994)

小管或小囊状，广泛存在于合成类固醇的细胞中(图 6-9)。如在肝细胞中，粗面内质网为扁囊状，而光面内质网为由扁囊边缘伸出的小管网。

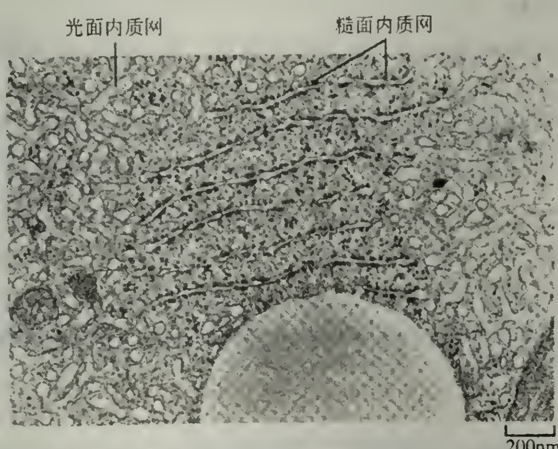


图 6-9　电镜下糙面内质网与光面内质网的不同形态(自 Alberts 1994)

内质网的膜厚度约为 5~6nm，比质膜要薄得多，但它仍具有典型的"暗-明-暗"式的单位膜结构。内质网的总面积很大，如在肝细胞中，内质网的总面积可相当于质膜的 30~40 倍。在 1mL 的肝细胞中就含有 $11m^2$ 的内质网膜，其中糙面内质网约占三分之二。

经高锰酸钾技术处理后的完整细胞，在相差、激光共焦扫描显微镜和透射、扫描电镜下，可观察到内质网系统在细胞内的结构与分布的全貌，内质网在不同细胞内呈现出相似的结构与分布。但在不同细胞中，其形态具有多样性，其数量和分布也有不同。如内质网的形态有扁囊状、管状、泡状等。即使是同种细胞，在细胞的不同部位、不同发育时期，甚至随着生理功能的不同，内质网也有差异。如分布于微足内的内质网编织成鸟巢状，而伸入到细胞突起中的则形成游离独枝；此外，在小鼠卵细胞的成熟过程中，内质网变为泡状，受精后随着发育又由泡状变为扁囊状。尽管如此，在同种细胞中，内质网的形态却是相对恒定的。

二、内质网的化学组成

内质网化学组成方面的资料主要来源于对微粒体(microsome)膜的研究。微粒体不是细胞内的一种固有结构，而是细胞匀浆在差速离心过程中所分离出的一种膜泡成分，它由内膜系统中各组分的膜断片自然卷曲而成，如内质网和高尔基复合体的膜等。根据糙面内质网和光面内质网的密度差异，经差速离心便可把两种内质网的组分分离开来。而且在高盐度的介质中，也可使微粒体上的核糖体脱落下来。

在内质网膜中，脂类约占 1/3，蛋白质约占 2/3。其中，光面内质网的脂类要比糙面内质网多一些。脂类成分中主要为磷脂，此外还有中性脂肪、磷脂酰肌醇、缩醛磷脂和一些神经节苷脂等。内质网的蛋白质含量比质膜多。蛋白质成分中有糖蛋白，其中一些为酶，内质网膜中约含有 30～40 种酶，其中有些酶与合成甘油三酯、磷脂和胆固醇有关。此外，内质网膜中还含有电子传递链的成分，目前至少发现了两种黄素蛋白(NADH－细胞色素 c 还原酶与 NADH－细胞色素 b5 还原酶)和两种血红蛋白(细胞色素 b5 与细胞色素 P－450)。细胞色素 P－450 主要位于光面内质网的胞质面，是光面内质网特有的标记酶。

内质网膜中含有的蛋白质，既有边周蛋白，也有整合膜蛋白，它们在膜上的分布是不对称的，有的偏向腔面，有的偏向胞质面。例如，细胞色素 b5、NADH- 细胞色素 b5 还原酶、NADH－细胞色素 c 还原酶、细胞色素 P－450 和 5′－核苷酸酶位于膜的胞质面；而葡萄糖－6－磷酸酶、核苷二磷酸酶和 β－葡萄糖苷酸酶则位于腔面。Heather P. Harding 等最近发现了一种跨膜的内质网膜驻留激酶(PKR-like ER-resident kinase, PERK)，该酶包括一个具有蛋白质激酶活性的胞质区、一个跨膜区和一个腔质区(图 6－10)。内质网受到环境压力时，该蛋白质的酶活性增强，使 eIF2α 第 51 位的丝氨酸残基发生磷酸化，干扰了 43S 翻译－起始复合物(见下文)的形成，从而抑制蛋白质的翻译(Harding, H. P.　1998)。

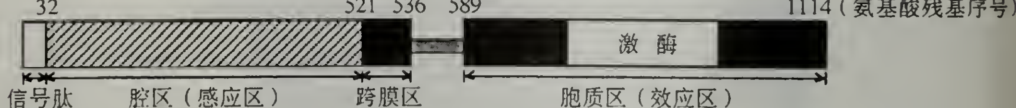


图 6－10　内质网膜中跨膜驻留蛋白一级结构的模式图解(自 Koch　1992)

另外，在糙面内质网膜中还含有信号识别颗粒的受体(signal-recognition particle receptor)等蛋白质。但在光面内质网中没有这种蛋白质的存在。

最近发现，在内质网腔中还富含有一类蛋白质，称为网质蛋白(reticulo-plasmin)，如内质蛋白(endoplasmin)、钙网蛋白(calreticulin)、免疫球蛋白重链结合蛋白(immunoglobulin heavychain-binding protein, BiP)、蛋白质二硫化物异构酶(protein disulphide isomerase, PDI)和 RP60 等(图 6－11)。内质蛋白是一种二聚体糖蛋白，在真核细胞中广泛存在，且含量非常丰富，它具有多种功能，其功能之一可能与结合钙离子有关(Koch 等，1986)；BiP 为单体的非糖蛋白，与热休克蛋白 HSP70 同源，它能通过稳定中间产物并阻止其聚集或不可逆变性来协助蛋白质的折叠，在其协助蛋白质的

折叠的过程中，因其本身不发生变化，故被称为分子伴侣（molecular chaperone）；PDI有几种存在形式，它可催化蛋白质中二硫键的交换从而保证蛋白质的正常折叠；钙网蛋白可结合大量的钙，它含有两类钙结合位点，包括一个高亲合性位点和许多低亲合性位点，它同肌质网中与钙贮存有关的捕钙蛋白（calsequestrin）具有许多共同性。总之，网质蛋白参与了蛋白质的折叠和 Ca^{2+} 的贮存，另外对维持内质网的结构与功能也具有重要作用。

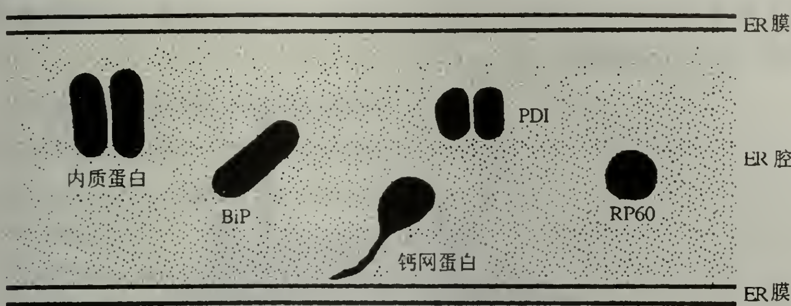


图 6－11　内质网腔中普遍富含的几种网质蛋白（自 Koch　1992）

三、内质网的功能

由于糙面内质网和光面内质网在结构上既具有共同性又有差异，因此它们在功能上亦会有所不同，尽管有些功能为其所共有。

（一）糙面内质网

糙面内质网膜中含有许多酶，且又能同核糖体结合，因而使它具有多种功能。

1. 蛋白质的合成

核糖体是蛋白质合成的场所，所有蛋白质的合成均是在细胞质溶质中的游离核糖体上起始的。经研究发现，附着在糙面内质网胞质面的核糖体所合成的多肽链均具有信号肽序列，且在内质网膜上还含有核糖体亲合蛋白与信号识别颗粒的受体，因此在信号识别颗粒的协助下，使多肽链可被转移到糙面内质网上进行合成（详见第十四章中蛋白质合成部分）。合成的多肽链可穿过内质网膜进入内质网腔，穿膜时多肽链呈非折叠状态。一种细胞质蛋白 HSP70 可能参与了去折叠的过程。在内质网上合成的蛋白质主要为分泌蛋白，此外还能合成一些装配内膜系统和质膜所需要的蛋白质。在活跃合成蛋白质时，内质网的潴泡扩大，里面充满了浓密的大分子物质。

当细胞内必需营养物缺乏、能源不足或受毒素刺激时，内质网还具有降低蛋白质合成起始速率的调控作用。这主要是内质网膜上的一种跨膜驻留蛋白－内质网驻留激酶通过使核糖体解聚和对 eIF2α 进行磷酸化来实现的（Harding, H. P.　1998）。

内质网腔中的新生蛋白质有两类，一类为要运往其他一些区域的蛋白质，如溶酶体蛋白或分泌蛋白；另一类为驻留蛋白。是怎么来区分它们的呢？一个主要因素就是在网质蛋白的 C- 末端存在有一个"赖氨酸（Lys）－天冬氨酸（Asp）－谷氨酸（Glu）－亮氨酸（Leu）"序列（简称 KDEL 序列），该序列能决定这些蛋白质的命运。去除该序列趋

向于形成分泌蛋白,而向其他蛋白质中添加该序列则会阻止其形成分泌蛋白。

2. 合成蛋白质的修饰与加工

蛋白质在内质网上合成的同时，也要进行修饰与加工，如多肽链的糖基化和羟基化等。糖基化发生在内质网的腔面,预先合成完毕的寡糖链通过焦磷酸键连接在一个插入到膜内的磷酸多萜醇(dolichol phosphate)上。当穿过内质网膜的多肽链上出现天冬酰胺残基时，在膜中糖基转移酶的作用下，便能将寡糖链从磷酸多萜醇上转移到多肽链的天冬酰胺残基上(图 6 – 12)。

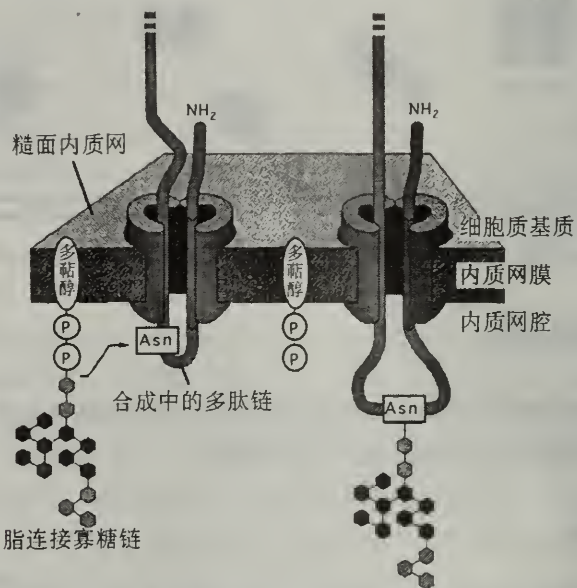


图 6 – 12　糙面内质网膜上的蛋白质糖基化作用图解

寡糖的合成在镶嵌于粗面内质网膜中的脂类分子多萜醇上开始，并通过焦磷酸连接在磷酸多萜醇上。一旦穿过内质网膜中的肽链中出现天冬酰胺残基时，已合成的寡糖链便在糖基转移酶的作用下从磷酸多萜醇上转移并共价结合到多肽链的天冬酰胺残基上。

在糙面内质网上进行的糖基化修饰大多为 N- 连接的糖基化,在内质网上添加上的寡糖链可分为两部分,一部分称为核心区(core region),该区在各种寡糖链中均是相同的，且与天冬酰胺残基直接相连的第一个糖总是 N- 乙酰葡萄糖胺；另一部分称为末端区(terminal region),该区在各种寡糖链中是不同的。在高尔基复合体上进行的糖基化主要是 O – 连接的糖基化，且加工修饰只发生在寡糖链的末端区，核心区保持不变(图 6 – 13)。

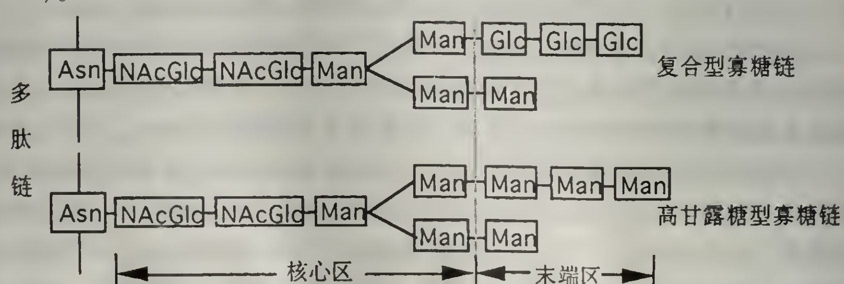


图 6 – 13　在糙面内质网中加接上的两类主要的 N – 连接寡糖链

在糙面内质网上合成的蛋白质,除进行糖基化修饰外,还可进行酰基化、肽链间二硫键的形成以及氨基酸的羟化等修饰作用,以使新生多肽链折叠成正确的三维结构。一些内质网的驻留蛋白包括 Grp78、Grp94 和 PDI 等在促进新生多肽链折叠中具有非常重要的作用(Kozutsumi et al. 1988, Gething et al. 1992),在此不一一赘述。在糙面内质网上合成的蛋白质，经过内质网腔被运送到高尔基复合体，形成分泌颗粒和溶酶体。

3. 膜的生成

糙面内质网能不断地进行自身装配和生成。用蛋白质和脂类的前体物 ^{14}C- 亮氨酸和 ^{14}C – 甘油进行跟踪标记，发现这些标记前体物掺入到糙面内质网中的数量要比掺入到光面内质网中的要大得多，因而表明膜的生成方向是由糙面内质网到光面内质网。膜的生成要经过多步，首先是合成基本膜脂和整合膜蛋白,然后按顺序依次添加上酶、专一性的糖和脂类。因此膜的生成要经过化学和结构上的改造,从而逐步转变为内膜系统中的各种膜,以至质膜，此即膜分化(membrane differentiation)的过程。

4. 物质的运输

内质网不仅能合成大分子物质，而且也是运输各种物质的通道，起着胞内物质运输循环系统的作用。用 ^{3}H – 亮氨酸做脉冲 – 追踪实验表明,在糙面内质网上合成的分泌蛋白，经由内质网腔进入高尔基复合体腔，包装成分泌颗粒后，再运输至胞外或其他细胞器(图 6 – 14)。

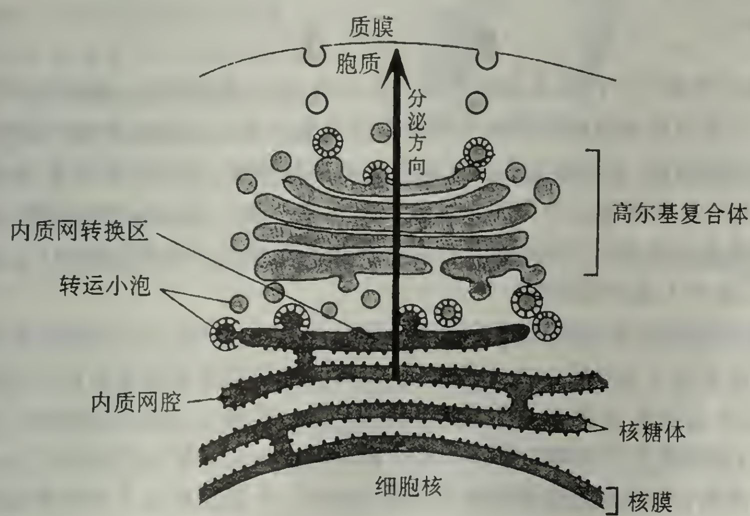


图 6 – 14 内质网与细胞核和高尔基复合体的相对位置关系
示分泌物的合成及其分泌途径

另外,内质网在离子和小分子物质的运输方面也起着一定作用。内膜把细胞质分隔成两部分，在膜的两侧造成了一定的电位差和浓度梯度，内膜上拥有载体和透性酶，为物质运输提供了条件。实验证明,物质在内质网膜上可发生穿膜扩散和主动运输。

5. 贮积钙离子

内质网还具有贮积 Ca^{2+} 的功能。细胞的基本需求之一就是对其胞质中钙水平的控制，这是因为 Ca^{2+} 的变化在一条主要的细胞内信号系统中起关键作用（见第十三章）。胞质溶质中的 Ca^{2+} 浓度极低（10^{-7}mol/L），而内质网腔中的 Ca^{2+} 浓度很高，这种膜两侧的 Ca^{2+} 浓度差是靠膜上的一种钙泵（钙激 ATP 酶）来维持的。钙泵可持续不断地把胞质溶质中的 Ca^{2+} 抽取到内质网腔中，造成了跨膜电化学梯度。一旦受到信号刺激时，膜上的钙通道打开，Ca^{2+} 迅即涌入胞质溶质中，参与信号的进一步传递，引起细胞发生一定的反应。由此可见，内质网是细胞信号传递途径的 Ca^{2+} 储备库。

内质网还含有呈强酸性的网质蛋白，如内质蛋白（endoplasmin）和钙网蛋白（calreticulin），对 Ca^{2+} 具有高度亲合性，在贮积 Ca^{2+} 方面具有重要作用（Macer 和 Koch 1988）。最近的研究表明，钙网蛋白与肌质网中的捕钙蛋白（calsequestrin）是相同的（Smith and Koch 1989）。此外，在海胆卵的内质网中也发现了一种相似的蛋白质，它同人类的网质蛋白一样，没有任何特异性的定位，而是分布于整个内质网中。内质网同线粒体的紧密接触对决定线粒体的 Ca^{2+} 信号反应具有调节作用（Rizzuto, R. et al. 1998）。

（二）光面内质网

光面内质网在形态上与糙面内质网相同，只是其细胞质溶质面不结合核糖体。然而，在功能上，二者有明显的差别。光面内质网的功能有如下几方面。

1. 合成脂类

光面内质网中有许多与脂类合成有关的酶，如乙酰转移酶、磷酸酶和胆碱磷酸转移酶等。光面内质网除脂肪酸和两种线粒体磷脂外能合成建造新膜所需的各种脂类，包括磷脂和胆固醇。合成的最主要的磷脂为磷脂酰胆碱。所合成的脂类，有的掺入到内质网膜自身，有的则通过出芽的方式或专一性载体蛋白运往其他细胞器。此外，甾体激素的合成也与光面内质网有关，在合成脂类和制造甾体激素的细胞中，光面内质网特别丰富，如肾上腺皮质细胞。

磷脂酰胆碱的合成是由胆碱、2 个脂肪酸和甘油磷酸经过三步反应进行的。每一步都是由存在于内质网膜上的酶所催化。酶的活性部位朝向胞质溶质一侧，因此之故，磷脂的合成只发生在膜邻近胞质溶质的一半。然而，内质网膜中存在有翻转酶（flippase），此酶能把含胆碱的磷脂从膜的胞质溶质一半反转到邻腔的一半。但是翻转酶对含乙醇胺、丝氨酸或肌醇的磷脂无翻转作用，于是便造成了膜两半脂类分布的不对称现象。

在内质网膜上合成的磷脂也可在不同的膜性细胞器间转移。在胞质溶质中含有一种水溶性的磷脂交换蛋白（phospholipid exchange proteins），此种蛋白可同脂类结合，携带脂类随机扩散，把脂类分子从含脂类多的膜转运到含脂类少的膜中。例如，从内质网转运到线粒体和过氧化物酶体。每一种磷脂都由专一的磷脂交换蛋白转运。

2. 解毒作用

在光面内质网膜中，有一些酶能与外源性物质结合并使其发生氧化而失活，具有清除脂溶性废物和代谢产生的有害物质的作用。如果外源物质是有害物质(如药物)，那么使其失活的这种作用便称为解毒作用(detoxification)。其中研究得较清楚的是光面内质网中的细胞色素 P-450 的解毒反应过程。细胞色素 P-450 相对分子质量为 50kDa，为一种末端氧化酶，在肝中具有解毒作用，它可通过羟基化而使脂溶性废物或代谢产物失活并溶解于水，使一些农药或其他药物失活，排出细胞后送入尿液，从而发挥其解毒作用。服用大量药物的动物，其与解毒有关的酶活性大量增加，引起光面内质网增生；但一旦药物消失，多余的光面内质网便会被溶酶体消化，几天内又恢复至原来的大小。如长期服用苯巴比妥(phenobarbitol)，可使肝中细胞色素 P-450 的含量增加 50% ~100%。

3. 糖原代谢

光面内质网中含有葡萄糖-6-磷酸酶，该酶可使葡萄糖-6-磷酸脱去磷酸，变成葡萄糖。肝细胞的光面内质网膜的胞质面上附着有许多糖原小颗粒，当体内需要化学能时，糖原便在激素的调控下被磷酸化酶降解为葡萄糖-1-磷酸，于胞质中再转化为葡萄糖-6-磷酸，但内质网膜对葡萄糖-6-磷酸具有不可通透性，因而无法离开肝细胞，也不能被其他细胞所利用。光面内质网膜中的葡萄糖-6-磷酸酶可将葡萄糖-6-磷酸中的磷酸根脱掉而使其降解为葡萄糖，这样葡萄糖便能穿越内质网膜进入光面内质网腔，再输送至血液中，以供其他细胞使用(图 6-15)。

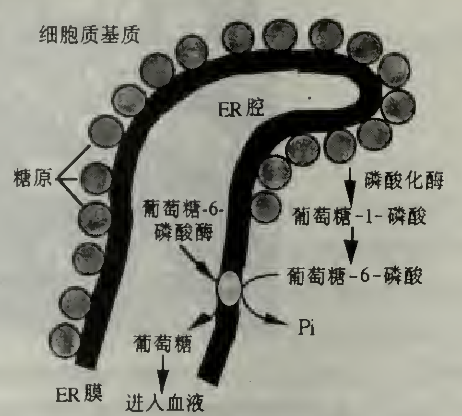


图 6-15 光面内质网参与糖原代谢过程图解

综上所述，内质网无论在结构上还是功能上，在细胞中均处于中心地位，是内膜系统的发源地。它具有多种功能，特别是在细胞分泌蛋白的合成和加工修饰中具有极其重要的作用。所有蛋白质的合成过程都是从细胞质溶质中的游离核糖体上起始的，翻译分泌蛋白的核糖体能结合在糙面内质网膜上继续进行蛋白质合成，而翻译非分泌蛋白的核糖体不能结合在内质网膜上，只能留在细胞质溶质中继续进行蛋白质合成。为什么会有此差别呢？为了解释这一现象，1971 年 Blobel 和 Sabatini 便提出了关于分泌蛋白合成机制的信号假说(signal hypothesis)，该假说认为，分泌蛋白、溶酶体蛋白和膜整合蛋白的翻译及穿膜活动同信号肽序列、信号识别颗粒、信号识别颗粒的受体有关(详见第十四章)。为这类蛋白质编码的 mRNA 带有信号密码子序列，翻译时此序列指导合成了肽链氨基端的信号肽序列，信号肽引导肽链穿膜。Blobel 因此项创见而荣获 1999 年诺贝尔奖。

四、内质网的特化类型

某些细胞由于发生特化而出现了特定的形态结构,从而执行着特定的功能。在某些特化的细胞中,其内质网的形态也发生了特化。常见的有以下几种特化类型。

(一)髓样小体

存在于视网膜的色素上皮细胞中。在这些细胞中,光面内质网发生了特化, 其小管小囊连接成了网状, 且在网的某些部位上出现了一些由膜层紧密平行排列形成的双凸透镜形的髓样结构, 称为髓样小体(myeloid body)(图 6－16)。膜层的边缘有小孔与光面内质网相联,可认为是光面内质网的局部特化。由于它在结构上与光感受器相似,因此认为它很可能依赖于光的刺激而进行功能活动。

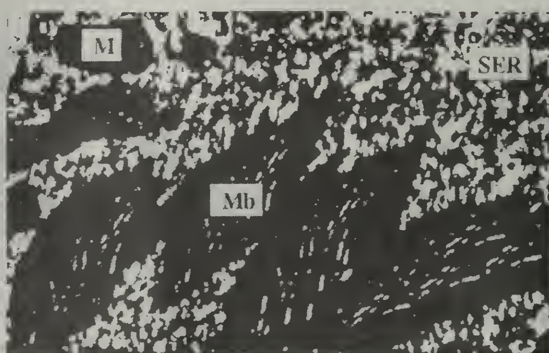


图 6－16　蛙视网膜色素上皮细胞中的髓样小体

M. 线粒体;Mb. 髓样小体;SER. 光面内质网(自 Wang,K. et al. 1998)

(二)环孔片层

环孔片层常见于生殖细胞或病理分化的细胞等快速增殖细胞的细胞质中, 如一些癌细胞、哺乳动物的神经原和松果体细胞等。环孔片层常常平行排列成堆, 极似带孔的薄内质网扁囊, 形态结构又相似于核膜片段, 称为环孔片层 (annulate lamellae)(图 6－17)。由于它存在于细胞质中, 且与糙面内质网相连接, 故有人认为它是糙面内质网的局部特化; 但又因其上的小孔与核膜上的核孔复合体非常相似, 也有人认为它是核膜的特化结构, 为核膜的外层膜出芽形成的扁囊。近年来, 有人在大鼠胎盘巨细胞和被囊动物的卵母细胞的细胞核中也发现了环状片层, 它与内层核膜和核仁相联系,很可能与核内外的物质运输有关。现也有证据表明,它在 RNA 和核糖体加工的某个阶段也有作用。但它的功能还有待于进一步探讨。

(三)肌质网

肌肉由肌纤维所组成,每一骨骼肌(横纹肌)肌纤维含有许多细胞核,因而是一个大的合胞体。每条肌纤维又是由若干更细的肌原纤维组成。肌纤维是高度特化的细

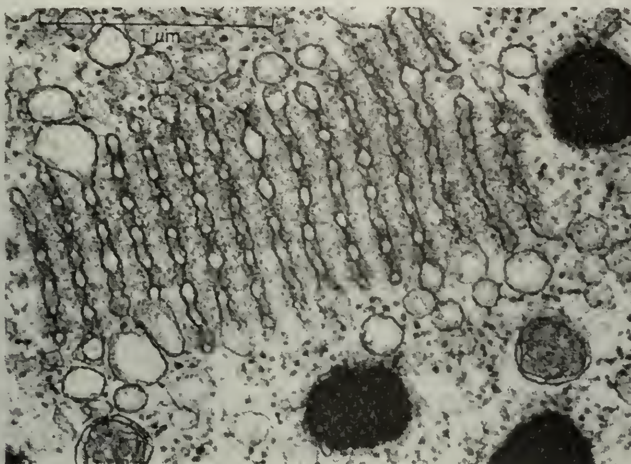


图 6－17　蛙成熟卵母细胞中的环孔片层电镜图

胞，其内质网也发生特化，形成了肌质网（sarcoplasmic reticulum）。现以横纹肌为例，介绍肌质网的结构和功能。

1. 肌质网的结构

肌质网是肌纤维内位于肌原纤维之间的纵行小管状结构。这些小管状结构沿肌原纤维有规律地分布，它们与肌节之间有一定的对应性。在两栖类动物的横纹肌中，每一个肌节都对应有一个肌质网单元在肌节的中部(H 带处)，纵行小管相互汇合形成了大的扁囊网，称为中央池(central cisterna)。肌质网上有窗孔，直径约 30～40nm。在肌节的两端，纵行小管也相互汇合形成大的扁囊，称为端池(terminal cisterna)。这种纵行小管和池结构包围在肌原纤维周围，相邻肌原纤维的肌质网通过端池彼此通连。因此，一条肌纤维中的肌质网是由许多具有横向通连的纵向囊管网组成(图 6－18)。

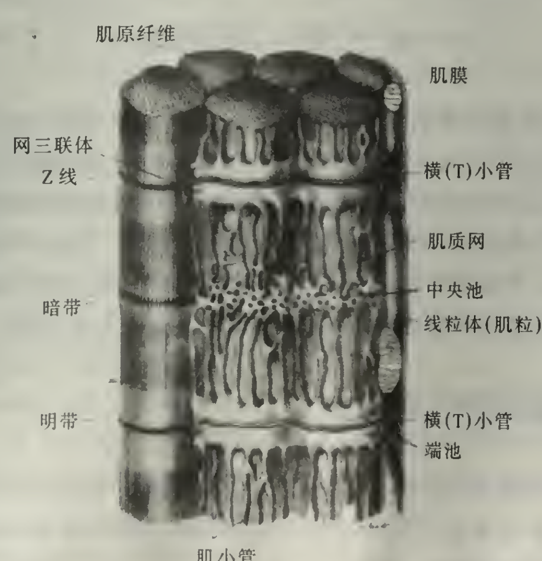


图 6－18　蛙缝匠肌的肌质网结构图解

在两肌节的交界处，有一条横向的小管状结构，围绕在肌原纤维周围，称为横小管(transverse tubule)。上述纵行小管和池结构包在肌原纤维周围，相临肌原纤维的肌质网通过中央池和端池彼此相连，因此，一条肌纤维中的肌质网是由许多横向通连的纵行囊管组成的。

2. 肌质网的功能

肌质网的主要功能是储积 Ca^{2+}，在肌肉收缩过程中具有重要作用。在肌质网膜上具有钙激 ATP 酶，即钙泵，具有回收 Ca^{2+}的作用。在肌质网中还含有捕钙蛋白(calsequestrin)，该蛋白呈强酸性的，对钙具有高度亲合性，实际上是钙离子的贮存蛋白。因此，当肌肉静息时，肌质网端池腔中的 Ca^{2+}浓度($8\times10^{-4}\sim10\times10^{-4}$mol/L)可高出肌质中的约数千倍。当受到冲动刺激后，肌质网释放 Ca^{2+}，引起肌丝收缩；收缩后，肌质网便利用钙泵迅速把 Ca^{2+}从肌质中回收回来，靠捕钙蛋白将 Ca^{2+}贮存在肌浆中。

五、内质网的来源

在电镜下，可观察到内质网与核外膜相连的现象，也可见到糙面内质网形成高尔基复合体的过程。因此，有的学者认为，内质网来源于核膜，因为在结构上糙面内质网和核膜相连，腔隙相通。另外一些学者持相反观点，认为核膜来源于内质网，因为核膜与内质网膜在性质上相似，且核膜的胞质面附着有核糖体，可进行蛋白质合成。但目前学者们一般认为，在内膜系统中，内质网处于中心位置，为内膜系统的发源地。

活细胞经喹啉蓝染色后，在荧光显微镜下，不但能观察到内质网膜系统的结构与分布，而且还能研究内质网的动态变化过程。经研究发现，内质网在细胞周期中的发育过程是，在刚刚分裂的 M 期子细胞中，内质网呈片段状，并凝集于细胞核的周围；在进入 G_1、S 和 G_2 期后，内质网逐渐组建成连续的网状结构。在哺乳动物的卵母细胞中，内质网呈小泡状，受精后，经过卵裂才逐渐发育成连续的膜囊。

通过细胞分裂，内质网大致平均分配到两个子细胞中。

第三节　核糖体

核糖体在各类细胞中普遍存在，是一种无膜包被的颗粒状结构，具有很强的嗜碱性。其体积很小，直经约为 25～30nm，在光镜下很难分辨清楚。

1897 年，Garnier 所发现的动质，实际上就是根据核糖体的染色反应所得到的结果。到了 1953 年，Robinson 在利用电镜观察植物细胞时，发现了一种颗粒状结构。随后在 1955 年，Palade 在动物细胞中也观察到了类似的颗粒。直到 1958 年，Roberts 才将这种颗粒正式命名为核糖核蛋白体(ribosome)，现已简称为核糖体。

一、核糖体的基本结构与类型

在原核细胞和真核细胞，甚至真核细胞的线粒体和叶绿体中均含有核糖体。原核细胞和真核细胞的核糖体在外形和功能上基本相同，然而两类细胞的核糖体大小不同。核糖体的直径一般为 15～20nm。

在电镜下，核糖体具有一定的三维形态，且每一核糖体均由大、小两个亚单位构成(图 6-19)。对肝核糖体做负染色显示出，大亚单位略呈半圆形，直经约为 23nm，在一侧伸出三个突起，中央为一凹陷；小亚单位呈长条形，大小为 23×12nm，在约 1/3 长度处有一细的缢痕，将小亚单位分为大小两个区域。当大小亚单位结合在一起成核糖体时，其凹陷部位彼此对应，从而形成一个隧道，为蛋白质翻译时 mRNA 的穿行通路；此外，据认为在大亚单位中还有一垂直于该隧道的通道，在蛋白质合成时，新合成的肽链由此通道穿出，可保护新生肽链免受蛋白水解酶的降解(图 6-20)。

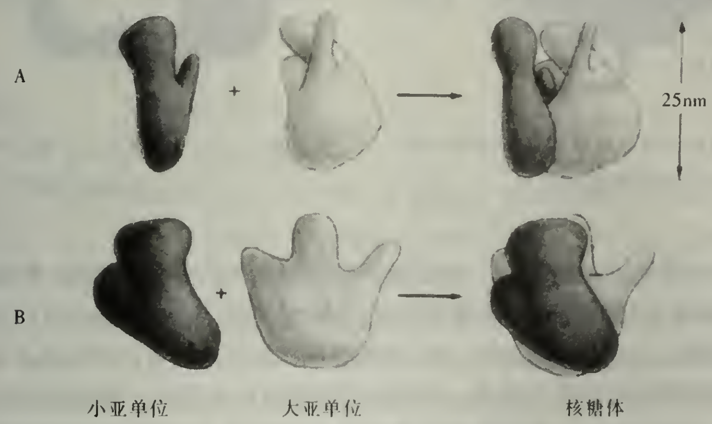


图 6-19 细菌核糖体的三维形态示意图(自 Alberts 1994)
B 排为 A 排的大、小亚单位和核糖体水平旋转 90°的侧面观

在蛋白质的合成过程中，大、小亚单位相互配合，但又各有分工。总的说来，大亚单位为肽基转移酶中心 (peptidyl transferase center)，小亚单位为解码中心 (decoding center)。具体说来，单个核糖体上有 6 个与蛋白质合成有关的活性位点，它们在蛋白质的合成过程中各有其特定的识别作用。这些活性位点是：① mRNA 的结合位点，于小亚单位上，如大多数原核细胞 16S rRNA 的 3′端有一段序列同 mRNA 结合位点具有互补关系，能识别并结合 mRNA 的起始端；② A 位点(aminoacyl-tRNA, 氨酰基位点)，亦称为氨基酸受位，位于大亚单位上，为接受新掺入的氨酰-tRNA 的结合位点；③ P 位点 (peptidyl-tRNA，肽酰基位点)，亦称为肽基部位或释放部位，位于小亚单位上，为延伸中肽酰-tRNA 的结合位点；④ E 位点(exit site)，于大亚单位上，是肽基转移后即将释放的 tRNA 的结合位点；⑤ 肽基转移酶的催化位点，可催化氨基酸间形成肽键，这是蛋白质合成过程中的关键反应，具有这种酶活性的不是蛋白质，而是大亚单位中的 rRNA；⑥ GTP 酶的结合位点，为延伸因子 EF-G 的结合位点，GTP 酶又称易位酶(translocase)，简称 G 因子，对 GTP 具有活性，可催化肽酰-tRNA 从 A 位点转移到 P 位点，促使肽链的延伸(图 6-21)。

大肠杆菌 23S rRNA 的二级结构可分为 6 个功能区 Ⅰ~Ⅵ。第Ⅴ功能区中至少有三段核苷酸序列参与了核糖体活性部位 A 位点和 P 位点的结构与功能 (Rachel Green et al. 1998)；最近还发现，23S rRNA 的肽基转移酶的功能中心位于第Ⅴ和第Ⅵ功能区的连接处(Itaru Nitta et al. 1998, Paul Schimmel et al. 1998)。

两亚单位常常游离于细胞质溶质中，当小亚单位与 mRNA 结合后，大亚单位才与

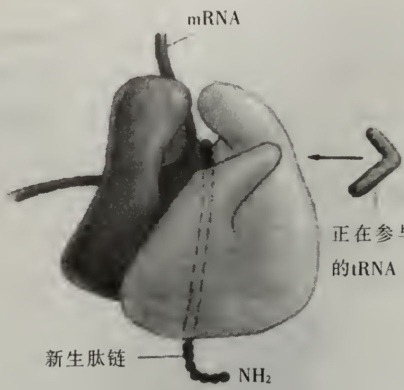


图 6－20　蛋白质合成时核糖体与 mRNA 和 tRNA 的相互结合关系

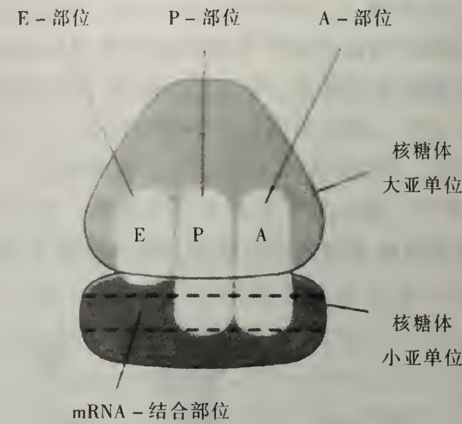


图 6－21　核糖体上与蛋白质合成有关的几个活性部位

小亚单位结合成完整的核糖体。肽链翻译结束后，大小亚单位解离，重新游离于细胞质溶质中。两亚单位的结合与分离受 Mg^{2+} 的影响：当 $[Mg^{2+}]$> 1mmol/L 时，两亚单位结合成单核糖体；$[Mg^{2+}]$ <1mmol/L 时，核糖体的两亚单位分离；而当 $[Mg^{2+}]$> 10mmol/L 时，两个核糖体则结合成二聚体。在细胞进行蛋白质合成时，常常是多个核糖体同时结合在一条 mRNA 链上，并且卷曲成蜗牛壳状的结构，这种成串的核糖体称为多核糖体（polysome，polyribosome），为细胞正在合成蛋白质的标志。

原核细胞、真核细胞以及真核细胞中的线粒体和叶绿体，其核糖体的大小各不相同。一般，真核细胞的细胞质核糖体为 80S，而原核细胞的细胞质核糖体为 70S，线粒体中的为 55S（图 6－22）。

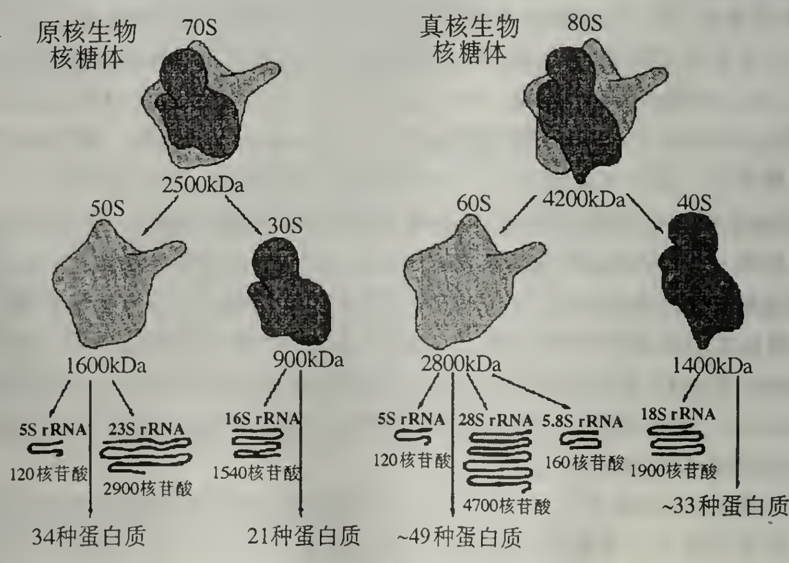


图 6－22　原核生物与真核生物核糖体结构对比图解

二、核糖体的化学组成

核糖体的主要成分为蛋白质和 RNA，蛋白质约占 40% ~ 50%，RNA 约占 50% ~ 60%。组成核糖体的 RNA 为细胞中专门的一类 RNA，故特称为核糖体 RNA(ribosomal RNA，简称为 rRNA)，它可占细胞中 RNA 总量的 80% 以上。由于 rRNA 的磷酸基所带的负电荷量多于蛋白质所带的正电荷量，因而核糖体呈现出很强的负电性，可同阳离子和碱性染料相结合。含核糖体多的细胞，其细胞质可被碱性染料(如甲苯胺蓝)所浓染。

(一)核糖体 RNA

原核生物的核糖体含有三种大小不同的 rRNA，在小亚单位中的为 16S rRNA (1542 个碱基)，在大亚单位中的为 23S rRNA(2904 个碱基) 和 5S rRNA(120 个碱基)。真核生物的核糖体含有 4 种 rRNA，在小亚单位中的为 18S rRNA(1900 个碱基)，在大亚单位中的为 28S(4700 个碱基)、5S(120 个碱基)和 5. 8S rRNA(160 个碱基)。

rRNA 具有高度复杂的二级结构，线性 rRNA 分子内部有 70% 的区段形成了双链螺旋。各种蛋白质则结合到折叠的 rRNA 分子上。16S rRNA 的 3′端，有一段序列同大多数原核生物 mRNA 的核糖体结合部位具有互补关系，从而使 30S 亚单位能识别 mRNA 的起始端。5S rRNA 有一段序列同 tRNA 中的 TψCG(ψ 为假尿嘧啶核苷酸)顺序互补，使 tRNA 能结合到核糖体上。

(二)核糖体蛋白

在适当的条件下，利用 CsCl 离心，可将核糖体亚单位中的 rRNA 和蛋白质成分分离出来。M. Meselson 发现，蛋白质成分是按照一定的顺序一组一组地被分离出来的。对大肠杆菌核糖体的研究表明，最先分出来的是核心 (core) 和一组分裂蛋白 (split protein)。30S 亚单位产生的为 23S 核心和一组分裂蛋白(简称为 SP30)；50S 亚单位产生的为 40S 核心和一组 SP50 分裂蛋白。由小亚单位的 23S 核心又可进一步分解为 16S rRNA 和 CP30 核心蛋白(core protein)；大亚单位的 40S 核心可再分解为 23S rRNA、5S RNA 和 CP50 核心蛋白(图 6 - 23)。

各种核心蛋白和分裂蛋白均可用电泳方法鉴别开来。大肠杆菌核糖体中共含有 55 种蛋白质，其中小亚单位约有 21 种，其编号为 S1 ~ 21 等，其中 S6 为 2 个；大亚单位含有 30 余种，其编号为 L1 ~ 31 等，其中 L7 和 L12 各为 2 个。S1 的相对分子质量较大，约为 65kDa，其余蛋白质的相对分子质量均介于 7 ~ 32kDa 之间，大部分蛋白质均含有丰富的碱性氨基酸。

组成核糖体的蛋白质，在大小亚单位中均有一定的空间分布。利用专一性抗体，在电镜下可对各种蛋白质做定位测定。图 6 - 24 即是利用这种方法测定出的各种蛋白质在核糖体中的空间定位情况。

真核生物的核糖体所含有蛋白质的种类比原核生物的要多一些，大亚单位含有 49 种，小亚单位含有 33 种，共计约 80 余种。

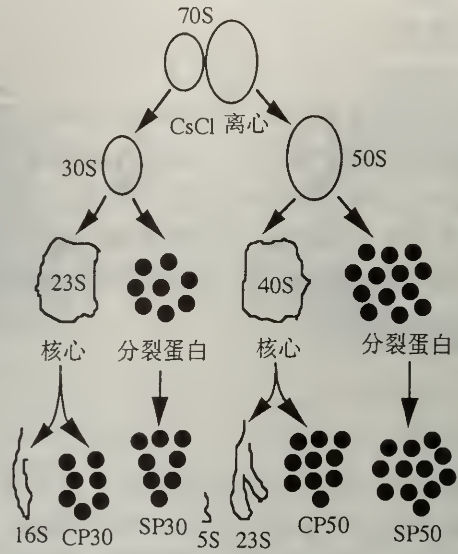


图 6-23　大肠杆菌核糖体组分解组图解

CP. 核心蛋白;SP. 分裂蛋白

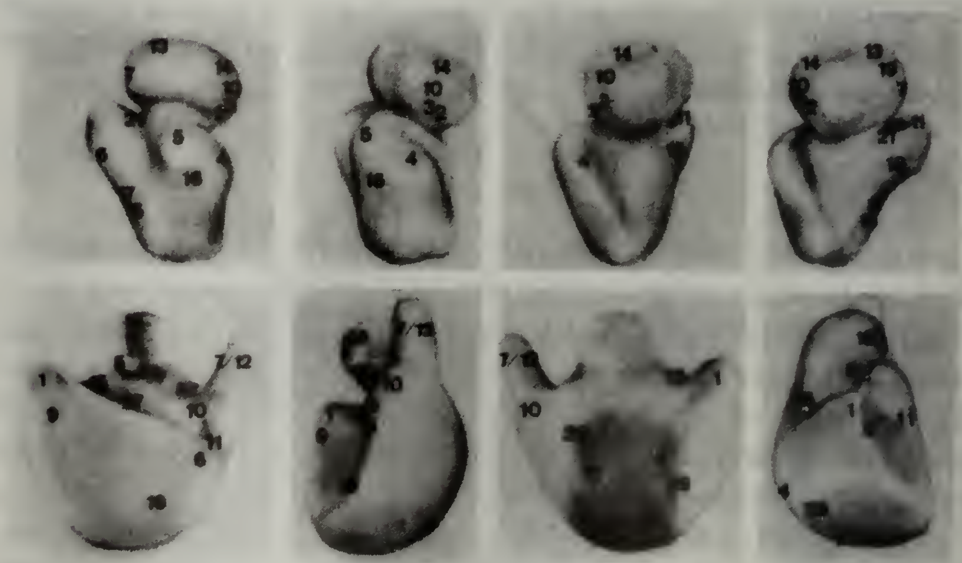


图 6-24　核糖体中各种蛋白质的空间定位示意图

三、核糖体的功能

核糖体是合成蛋白质的场所，但细胞内的蛋白质在合成时往往是以多核糖体的形式进行的。无论是结合在糙面内质网上的核糖体还是游离核糖体，在合成蛋白质时均以多核糖体的状态存在。多核糖体的大小同 mRNA 链的长短成正比(图 6-25)。

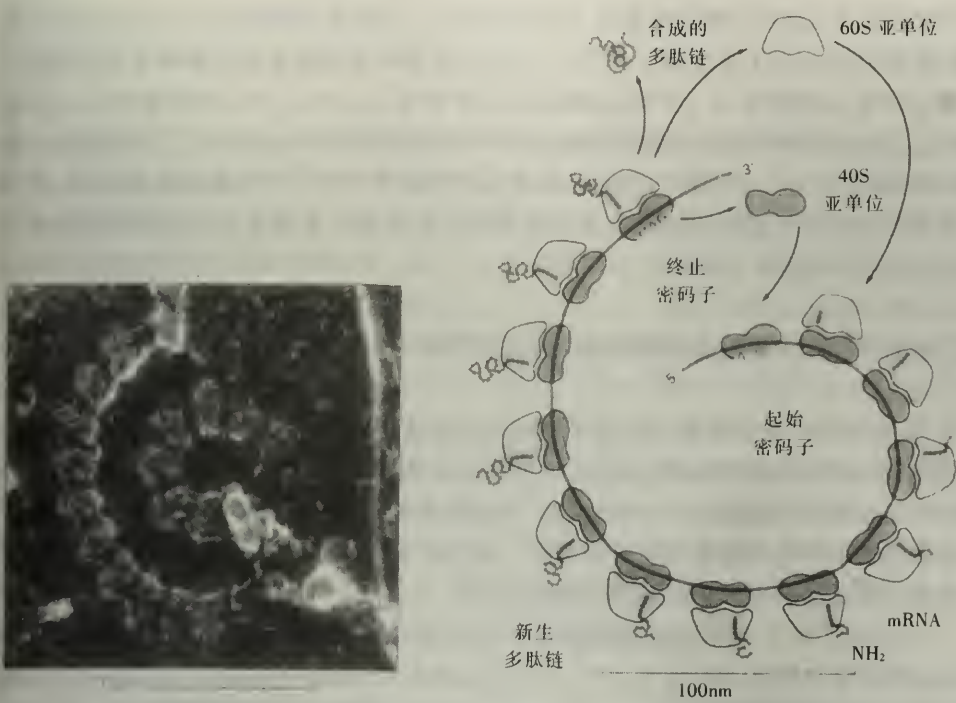


图 6－25　正在进行蛋白质合成的多核糖体的电镜照片(A)和图示(B)

蛋白质的合成过程比较复杂，由核糖体、mRNA 和 tRNA 三者密切配合共同完成，一般要经过肽链合成的起始、延伸和终止三个阶段的反应，才能转译出多肽产物。多肽链和蛋白质合成的具体反应过程将于第十四章中蛋白质的生物合成部分再向大家作详细介绍。下面以原核细胞为例，介绍一下核糖体在蛋白质生物合成中的作用机制。

(一)核糖体与 tRNA 相互识别的分子机制

多肽链的合成从 N－端向 C－端进行。在多肽链合成的起始过程中，tRNA 起到了将氨基酸转运到核糖体上的作用，它又是如何结合氨基酸和识别核糖体的呢？关于这个问题，Paul Schimmel 等(1998)提出了一个模型(图 6－26)。该模型认为，带有反密码子的呈"L"型的 tRNA 具有两个不同的臂 (arms)，一个臂是受纳区 (acceptor)，具有 TψC 小螺旋，其 3′端的通用 CCA 单链序列为氨基酸的结合位点，氨基酸通过酯化作用可连接到末端的 A 上；另一个臂含有三联体的反密码子，可与 mRNA 上的三联体密码子

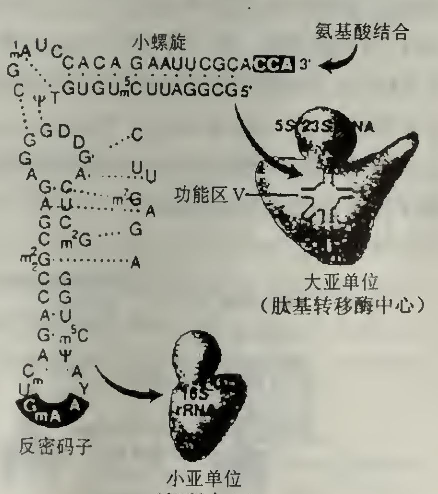


图 6－26　核糖体与 tRNA 相互识别和结合的分子机制(自 Schimmel，P. et al. 1998)

进行配对结合。这两个臂之间有 7.5nm 的间距。一旦被氨基酸酰化结合,tRNA 便与埋入核糖体中的 mRNA 发生相互作用, tRNA 的反密码子功能区通过密码子 - 反密码子相结合的方式便能作为一个模板阅读探头来破译 mRNA 上的三联体密码子。根据 mRNA 上的三联体密码子, 氨基酸酰化的 tRNA 线性排列在 mRNA 上, 其带电的小螺旋区便紧靠在一起, 从而使一个氨基酸的氨基端能攻击另一个氨基酸的羧基端, 在两个氨基酸之间便可形成肽键。上述这种偶联反应发生在大亚单位的肽基转移酶中心(Paul Schimmel et al. 1998)。

(二)核糖体在翻译起始复合物形成中的作用机制

所有 mRNA 在核糖体上的转译过程均是由起始密码子 AUG 启动的,起始密码子 AUG 的编码产物为甲硫氨酸, AUG 可为特定的 tRNA 的反密码子所识别而形成一种特异性的起始物(initiator)——$tRNA^{Met}$。在原核生物中,甲硫氨酸一旦结合到 tRNA 上一般要发生甲酰化而形成甲酰甲硫氨酸。线粒体和叶绿体同原核生物一样,其核糖体上合成多肽链都是由 N – 甲酰甲硫氨酸起始的。

对起始密码子 AUG 的正确识别是由 16S rRNA 3′端的一段核苷酸序列和 mRNA 5′端起始部位(AUG 上游)的 3 ~ 9 个互补核苷酸序列(Shine-Dalgamo sequence)进行碱基配对来实现的。在真核生物中,异三聚体的翻译因子 eIF_2 先与 GTP 和 $tRNA^{Met}$ 结合形成一个稳定的三元复合物,然后便能与 40S 核糖体亚单位稳定结合形成 43S 的前起始复合物(preinitiation complex)。此复合物与 mRNA 5′端附近的起始部位结合,便开始向 3′端扫描, 靠 $tRNA^{Met}$ 上反密码子和 mRNA 上 AUG 的配对作用来搜寻起始密码子 AUG。在 AUG 起始位点的识别过程中, 包括 eIF_2 在内的几种翻译因子发挥了重要作用。前起始复合物与 mRNA 结合形成起始复合物后,60S 大亚单位才结合上去,从而开始阅读密码子进行多肽链的翻译。

在大肠杆菌中, 多肽链合成的开始也是由核糖体的小亚单位同 $tRNA^{fMet*}$、mRNA 结合后发生的。由 30S 小亚单位、mRNA 和甲硫氨酰 – tRNA 形成了 30S 起始复合物。起始复合物的形成需要有 GTP 和三种起始因子(Initiation factor, IF)IF 1 ~ 3 参加。IF2 具有 GTP 酶活性,是一个 97.3kDa 的单链多肽,在靠近多肽链的中心部位含有一个能与 GTP 结合的保守区,同 GTP 的结合有关。在 30S 亚单位 -mRNA-Met-$tRNA^{fmet}$ 起始复合物形成之后,50S 亚单位才参加进去,形成 70S 复合物。这时,GTP 水解使起始因子从 70S 核糖体上释放出来, 甲酰甲硫氨酸占据小亚单位上的 P 位, 开始阅读密码子, 进行多肽链的合成(图 6 – 27)。



图 6 – 27　大肠杆菌 43S 起始复合物的形成过程图解

示核糖体、tRNA 和 mRNA 的相互关系

(三)核糖体在肽键形成中的催化活性

核糖体上有 A 部位和 P 部位这两个部位均可接纳氨酰基－tRNA。在多肽合成起始时，$tRNA^{fMet}$ 结合到 P 部位，而 A 部位尚空着，故核糖体可接纳另一个氨酰基-tRNA，接纳的种类要依在 A 部位上 mRNA 所暴露的密码子来决定。A 部位一旦被占据，则在肽基转移酶的催化下，在 P 部位上 tRNA 所携带的甲酰甲硫氨酸（或肽链）与 A 部位上的氨基酸之间形成肽键。关于肽基转移酶的活性，过去一直认为是由某种核糖体蛋白来承担的。但最近在大肠杆菌中的研究结果表明，催化氨基酸之间形成肽键的不是蛋白质性酶，而是 23S rRNA（Itaru Nitta et al. 1998）（图 6－28）。在实验中，为了去除蛋白质对实验结果的干扰，他们人工合成了大肠杆菌的 23S rRNA，在没有任何核糖体蛋白存在的情况下，23S rRNA 在实验中仍具有催化氨基酸之间形成肽键的能力，而且发现该功能中心位于 23S rRNA 第Ⅴ和第Ⅵ功能区的接点处。这是继发现四膜虫 rRNA 具有自我复制和剪接催化活性之后，对 rRNA 催化活性的又一重大发现，它否定了只有蛋白质才具有催化活性的传统观点。鉴于任何生命均要依赖于蛋白质的合成，因此，这一发现对于弄清地球上生命起源的最初形式必将有所启示。

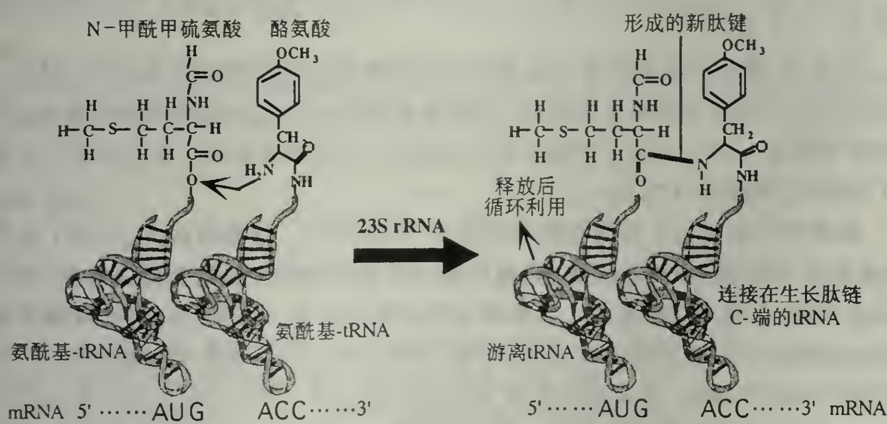


图 6－28 大肠杆菌中由 23S rRNA 催化的肽基转移酶反应图解

在肽链的延长过程中，还需要有延长因子（elongation factor, EF）的参加，延伸因子的主要作用是介导氨酰基－tRNA 进入 A 位和促使肽基-tRNA 由 A 位转移到 P 位。当阅读到 mRNA 中的 UAA、UAG 和 UGA 等终止密码子（termination condon）后，多肽链的合成便被终止。终止密码子的识别及肽链合成的终止要靠释放因子（release factor, RF）的协助。释放因子的主要功能是可识别终止密码子、使多肽链和 tRNA 从核糖体上释放出来。随后，30S 亚单位又可参加形成新的 30S 起始复合物，启动另一肽链的合成。

提　　要

细胞质是指细胞膜以内除细胞核（或类核）以外的成分，它包括液态的细胞质溶质、各种细胞器和内含物。细胞质溶质又称为细胞质基质，它是细胞质中除细胞器和

内含物以外的、较为均质半透明的胶状物质，它在细胞的物质代谢、维持细胞内环境的稳定性等方面具有重要作用。

在真核细胞中，还存在着内膜系统，包括内质网、核膜和高尔基复合体，溶酶体和质膜可以看作是内膜系统的产物。内膜系统把细胞质分隔成许多区域，使细胞的生理、代谢活动更加分区化和精密配合。一些由膜围成的细胞器即为膜性细胞器，除有内膜系统的各种细胞器外，还有线粒体和叶绿体。

无论是在结构上还是在功能上，内质网在内膜系统中均占据中心地位。内质网是在细胞质中由膜围成的扁囊（池）和小管。整个内质网膜是连续的，所围成的腔隙亦相通。内质网膜朝向细胞质溶质和朝向内质网腔的面分别称为胞质面和腔面。在胞质面上结合有核糖体的内质网区称为糙面内质网，无核糖体结合的内质网区称为光面内质网。糙面内质网的主体结构是扁囊，光面内质网基本上为小管状结构。

糙面内质网与光面内质网在化学组成和功能上均有所不同，糙面内质网膜中含有核糖体的受体蛋白。糙面内质网的主要功能是合成蛋白质，所合成的蛋白质可穿膜进入内质网腔，并进一步加工成分泌蛋白、溶酶体蛋白和膜蛋白等；糙面内质网还可对多肽链进行修饰与改造，如蛋白质的糖基化和羟基化等，还可参与膜的生成和胞内物质的运输等。光面内质网的功能则不同，其功能主要是解毒、合成脂类和分解糖原。此外，在内质网腔中还含有内质蛋白和钙网蛋白等网质蛋白，在贮积和释放钙离子方面具有一定作用。

肌质网、髓样小体和环状片层是某些特定细胞中内质网的特化类型。其中，肌质网是横纹肌肌细胞中的特化内质网，可浓集和存贮 Ca^{2+}。当受到冲动刺激时，可迅速向肌浆中释放 Ca^{2+}。肌浆中钙离子浓度的提高，引起肌肉收缩。肌质网膜上有回收钙离子的钙泵，即钙激 ATP 酶。

核糖体广泛存在于各类细胞和线粒体、叶绿体中。核糖体由大、小两个亚单位组成，组成成分为 rRNA 和蛋白质。真核生物与原核生物所含有的核糖体类型不同，前者为 80S 型的，后者为 70S 型的。叶绿体中的核糖体也为 70S 型的。但线粒体中的核糖体因生物种的不同而有很大的差别，可从 55S 到 80S 不等。80S 型核糖体的大、小亚单位分别为 60S 和 40S，大亚单位含有 28S、5S 和 5.8S 三种 rRNA，小亚单位中只含有 18S rRNA。70S 型核糖体的两个亚单位分别为 50S 和 30S，大亚单位中含有 23S 和 5S 两种 rRNA，小亚单位中只含有 16S rRNA。rRNA 在同 tRNA 及 mRNA 的相互识别、在翻译起始复合物形成和催化氨基酸之间形成肽键方面均具有重要生物学功能。

核糖体上具有 6 个活性部位，即 mRNA 的结合位点、A 位点、P 位点、E 位点、T 因子结合位点和 GTP 酶结合位点。在蛋白质合成的过程中，这些活性部位相互配合作用，可使肽链的合成能准确地起始、延伸和终止。

当组成核糖体亚单位的 rRNA 和蛋白质成分以及条件齐备时，可自行装配成有活性的亚单位。根据对 30S 亚单位的研究表明，rRNA 是组成亚单位的支架，蛋白质可分批先后装配上去。核糖体中的 rRNA 除有支架作用外，16S rRNA 3′端还有一段同 mRNA 5′端起始部位（AUG 上游）的 3 ~ 9 个核苷酸序列的互补的核苷酸序列以便于同 mRNA 结合。

带有反密码子的呈"L"型的 tRNA 具有两个不同的臂，一个臂是具有 3′端 CCA 单链序列的氨基酸结合位点的 TψC 小螺旋，另一个臂含有三联体的反密码子，可与 mRNA 上的三联体密码子进行配对结合。3′端 CCA 序列一旦被氨基酸酰化结合，tRNA

便与埋人核糖体中的 mRNA 发生相互作用，tRNA 的反密码子功能区通过密码子－反密码子相结合的方式便能作为一个模板阅读探头来破译 mRNA 上的三联体密码子，进行多肽链的合成。现已证实，23S rRNA 在无任何核糖体蛋白存在的情况下仍具有催化氨基酸之间形成肽键的肽基转移酶活性。

核糖体是合成蛋白质的工厂。蛋白质的合成是由核糖体、mRNA 和 tRNA 三者密切配合共同完成的，且往往是以多核糖体的形式进行合成，从而使翻译更加经济而有效。

复习思考题

1. 在细胞中，细胞质溶质的存在有何生物学意义？
2. 内膜系统包括哪儿部分？单列为一个系统的依据是什么？
3. 糙面内质网和光面内质网在细胞的生命活动中各自承担了什么样的角色？
4. 真核生物与原核生物的核糖体均是细胞内合成蛋白质的工厂，为什么它们在结构组成上又有差别呢？
5. 你认为核糖体的 6 个活性部位中有哪些与核糖体 RNA 有关？理由是什么？
6. 糙面内质网上所进行的糖基化的机制如何？其添加的寡糖链又有什么特点？
7. 结合你在第五章——质膜与细胞信号传递中所学知识，谈谈内质网在细胞信号传递中的生物学功能。
8. 现已证实核糖体 RNA 除具有自我复制和自我剪接等酶活性外，还具有催化氨基酸间形成肽键的酶活性，据此，结合你所掌握的知识谈谈你的看法。

主要参考文献

刘 威，1999. 细胞内蛋白质运输的信号理论和分子机理——1999 年诺贝尔生理/医学奖简介．生物化学和生物物理进展，26(6):618～620

汪堃仁，薛绍白，柳惠图，1998. 细胞生物学．北京：北京师范大学出版社，110～138

尤复翰，1982. 细胞的结构与细胞的代谢．南京：江苏科技出版社，249～256

郑国锠，1992. 细胞生物学(第二版). 北京：高等教育出版社，126～176; 242～269

翟中和等，1995. 细胞生物学．北京：高等教育出版社，109～129

Alberts B. *et al.*, 1994. Molecular Biology of the Cell, 501～518. Garland Publishing, Inc., New York & London. (3rd ed.), 319～380

Choi, S. K. & Lee, J. H. *et al.*, 1998. Promotion of Met-tRNA^{Met} Binding to Ribosomes by yIF2, a Bacterial IF2 Homolog in Yeast. Science, 280: 1757～1760

De Robertis, 1980. Cell and Molecular Biology. Saunder College, Philadelphia. 206～225

Gething, M. J. & Sambrook, J., 1992. Protein folding in the cell. Nature, 355: 33～45

Gordon L. E. Koch, 1992. Fundamentals of Medical Cell Biology, Vol. 4, Membranology and Subcelluar Organelles, JAI Press Inc., 397～420

Green R. & Switzer, C. *et al.*, 1998. Ribosome-Catalyzed Peptide-Bond Formation with an A-Site Substrate Covalently Linked to 23S Ribosomal RNA. Science, 280: 286～288

Harding, H. P. & Zhang, Y. H., *et al.*, 1998. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. Nature, 397: 271～274

Karp, G., 1984. Cell Biology. 2nd ed., McGraw-Hill Book Company, New York. 252～265

Kozutsumi, Y., Segal, M., *et al.* 1988. The presence of malfolded proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-related proteins. Nature, 332: 462～464

Lake, J. A., 1981. Ribosome. Science, 12: 35～49

Nitta, I., *et al.*, 1998. Reconstitution of Peptide Bond Formation with Esclerchia coli 23s Ribosomal RNA Domains. Science, 281: 66 6 ~ 669

Pelham, H. R. B., 1989. Control of Protein Exit from the Endoplasmic Reticulum. in "Annual Review of Cell Biology", ed. Palade, G. E., Annual Reviews Inc. Polo Alto. 1 ~ 23

Rizzuto, R. & Pinton P., *et al.*, 1998. Close Contact with the Endoplasmic Reticulum as Determinants of Mitochondrial Ca^{2+} Responses. Science, 280: 1763 ~ 1766

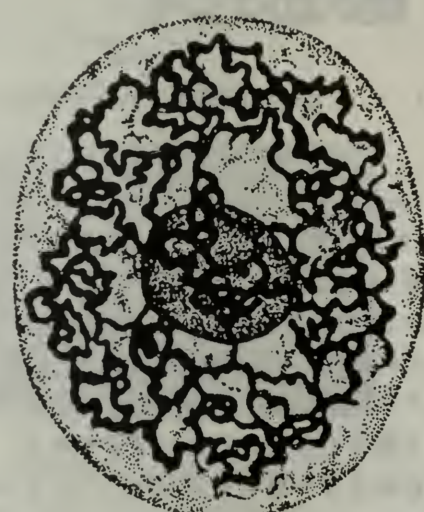
Schimmel P. & Alexander R., 1998. All you need is RNA. Science, 281: 358 ~ 659

第七章

高尔基复合体与细胞分泌

在内膜系统中，除内质网外，还有一种非常重要的膜性细胞器，即高尔基复合体。

高尔基复合体发现得很早。1898 年，意大利医生高尔基（Camillo Golgi）利用硝酸银染色法，在猫头鹰和猫小脑的蒲金野氏细胞（一种神经细胞）中，发现了一种嗜银的网状结构（图 7－1），由于存在于细胞内质中，高尔基便将其命名为内网器（internal reticular apparatus）。后人为了纪念他，而改称为高尔基体（Golgi body）或高尔基器（Golgi apparatus）。因其形态结构和组成较复杂，故学者们现一般称其为高尔基复合体（Golgi complex）。


图 7－1　1898 年 Golgi 所描述的"内网器"形态

由于高尔基体折射率与周围的细胞质差不多，因此用光学显微镜在活细胞或普通染色的细胞中很难观察到它的存在。只有在用硝酸银染色的标本中，才能观察到高尔基体，因而很长一段时期，许多学者认为，所谓的高尔基体只不过是由于固定和染色而产生的一种人为假象，实际上并不存在。直到 20 世纪 50 年代，由于电镜的使用，A. J. Dalton、M. D. Felix 和 F. Sjosrand 等人的工作才肯定了高尔基器的真实存在。

高尔基体是细胞内膜系统的一部分，其功能活动也是同内膜系统中的其他成分相互配合进行的。

第一节　高尔基复合体的形态结构

在不同细胞中，高尔基复合体的形态、大小和分布均有很大的差异。高尔基复合体由光滑膜构成。在大多数脊椎动物细胞中，高尔基复合体为复杂的网状结构。在三维空间上，由一摞封闭的紧密叠置在一起的碟形膜围扁囊构成。其最基本的成分就是由膜围成的扁囊，这种充满液体的扁囊称为潴泡（cisternae），潴泡的直径约为 1μm，上有窗孔；潴泡成摞存在，潴泡与潴泡之间的距离仅为 25～30nm，潴泡的边缘部分有许多大小不等的表面光滑的分枝状小管和圆泡，成摞存在的潴泡组成了分散的高尔基体（dictyosome）（图 7－2）。分散的高尔基体构成了高尔基复合体的主体结构，若干个分散的高尔基体相互连接成复杂的网状，便组成了高尔基复合体（Golgi complex）（图 7－3）。

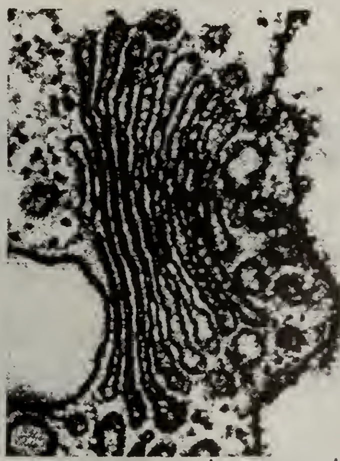


图 7－2　植物细胞中分散高尔基体的电镜图

无脊椎动物细胞中，高尔基体多以分散高尔基体(dictyosome)的形式存在。这些分散高尔基体遍布整个细胞质中，与糙面内质网无明显的结构联系。每个分散高尔基体也是由 4～8 层碟形潴泡叠摞而成的结构。

在具有生理极性的动物细胞中，高尔基复合体一般位于核与细胞分泌端之间，如胰腺的外分泌细胞和小肠上皮的黏液细胞均是如此。分散的高尔基体本身在结构上亦具有极性，它多呈弧形，亦有的呈半球形或球形。在近核的一侧，潴泡弯曲呈凸面(conver face)，称为形成面（forming face)，又称顺面(*cis* 面)，膜较薄，只有 6nm，且“暗－明－暗”三层式的单位膜结构不明显；在远核的一侧，潴泡呈凹面（concave face)，称为成熟面(maturing face)，又称反面(*trans* 面)，膜较厚，约为 10nm，并具有典型的单位膜结构，近似质膜。随着由形成面向成熟面逐渐分化，膜的厚度逐渐增加。无论是在 *cis* 面，还是 *trans* 面都在顶面部位存在一特殊区域，在此区域中，小管和潴泡连接成网，此谓高尔基网(Golgi network)，顺面的称为 *cis* 网，反面的称为 *trans* 网。位于形成面和成熟面之间的几个潴泡为中间潴泡，由扁囊和管道组成，其膜的厚度也介于形成面和成熟面之间(图 7－4)。间期动物细胞的高尔基复合体往往位于中心体的附近，且形成面通常与糙面内质网的特定区域紧密联系。最近的研究结果表明，高尔基复合体在中心体附近的分布与微管有关(图 7－5)。如果用秋水仙素处理细胞，高尔基复合体就会出现弥散性分布，且会失去其原有的典型性结构；当去除秋水仙素后，很快又能恢复其原有的典型性结构。

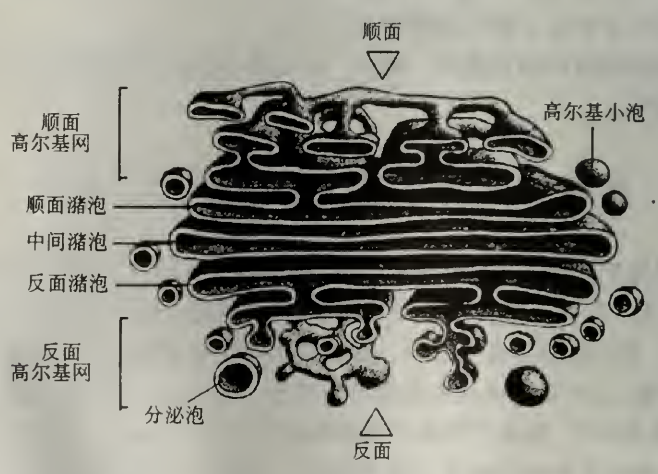


图 7－3　高尔基复合体的三维结构模式图(自 Alberts　1994)

在不同种类细胞中，分散高尔基体的大小和数量也会有所不同。有些细胞中，只有一个分散高尔基体，在真菌中甚至只有一个潴泡。而在原生生物、无脊椎动物和高

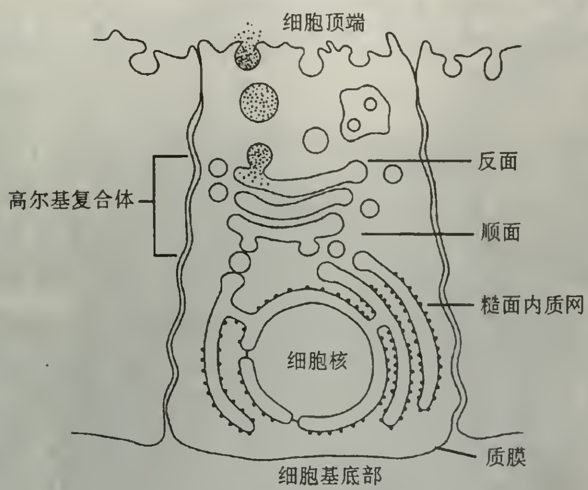


图 7-4 极性细胞中高尔基复合体的极性分布示意图

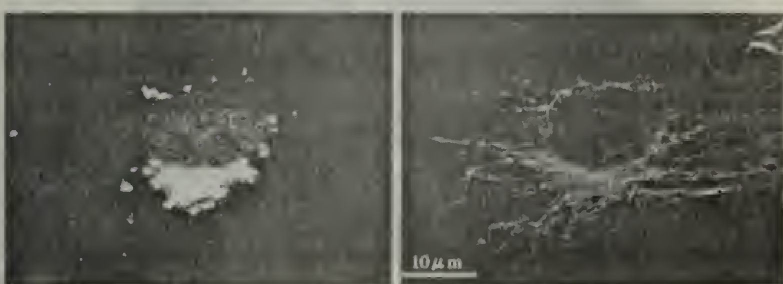


图 7-5 高尔基复合体(左)与微管分布(右)的对应关系
(自 Alberts 1994)

等植物的细胞中往往有多个分散高尔基体。如肝细胞中有 50 个分散高尔基体；有些藻类细胞中有多达 25 000 个分散高尔基体；植物细胞和无脊椎动物细胞中，分散高尔



图 7-6 玉米根冠细胞细胞质中分散存在的分散高尔基体
D. 分散高尔基体；M. 线粒体；ER. 内质网

基体遍布于整个细胞质中(图 7 - 6)。哺乳动物的附睾管上皮更为特殊，多个分散高尔基体形成了一个庞大的高尔基复合体(图 7 - 7)。由此可见，高尔基复合体的结构是多种多样的。



图 7 - 7　哺乳动物附睾管上皮细胞中的大高尔基复合体

细胞中含有超大环形高尔基复合体，其意义尚不清楚

在分散的高尔基体周围的细胞质基质中，缺乏核糖体、线粒体、叶绿体等细胞器，故称为高尔基基质(Golgi ground substance)。

第二节　高尔基复合体的化学组成

对高度纯化的高尔基复合体进行生化分析表明，其化学组成介于内质网和质膜之间。在大鼠肝的高尔基复合体中，蛋白质含量约为 60%，脂类约为 40%。尽管对组成高尔基复合体膜的膜脂还没有完全搞清楚，但已经证明其主要成分为胆固醇和磷脂，此外还鉴定出了糖脂的存在。高尔基复合体、内质网和质膜所共有的某些蛋白质，在高尔基复合体中的种类比内质网中的要少，比在质膜中的要多。这也说明内质网、高尔基复合体和质膜在形成上有一定的顺序。

此外，高尔基复合体的各部潴泡均具有其特有的化学成分，根据电镜细胞化学方法对高尔基复合体结构成分的研究结果表明，高尔基复合体的各部潴泡分别具有 4 种标志细胞化学反应区(图 7 - 8)。

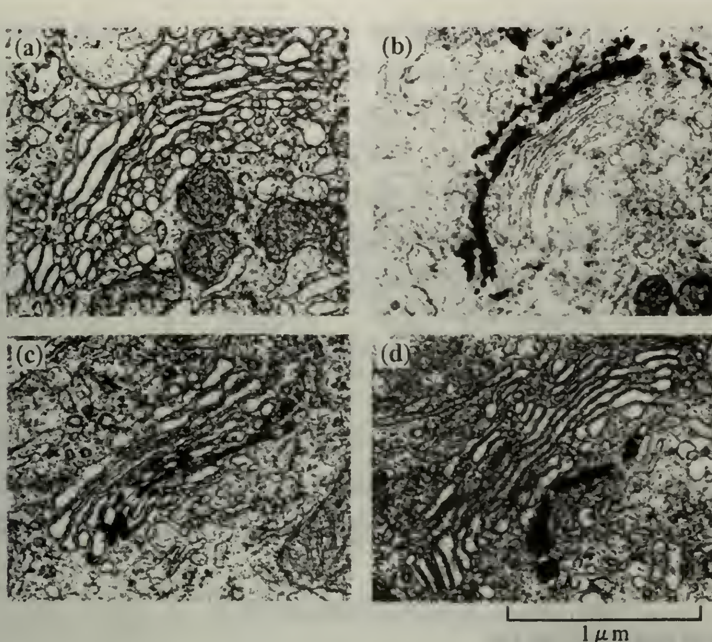


图 7－8　高尔基复合体的组织化学染色，示高尔基复合体的分区化

(a)无染色的对照切片；(b)锇染色，特异性显示顺面的 1～2 个潴泡；

(c)核苷酸二磷酸酶染色，特异性显示反面的 1～2 个潴泡；

(d)酸性磷酸酶染色，特异性显示反面的高尔基网络区(自 Alberts, B. et al.，1994)

1. 嗜锇反应区

在用锇酸染色时，高尔基复合体顺面的 1～2 个潴泡可发生特异性着色。嗜锇反应为顺面潴泡的标志反应。

2. 烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸酶(NADP 酶)反应区

可特异性地显示高尔基复合体的中间几层潴泡，NADP 酶反应为中间潴泡的标志反应。

3. 胞嘧啶单核苷酸酶(CMP 酶)反应区

常常可显示靠近高尔基复合体成熟面上的一些潴泡和管状结构。CMP 酶同样也是溶酶体的标志酶，因此也暗示这些具有 CMP 酶特异性反应的潴泡和管状结构为溶酶体的形成部位。

4. 硫胺素焦磷酸酶(TPP 酶)反应区

用 TPP 酶进行细胞化学反应时，高尔基复合体反面的 1～2 个潴泡可被特异性地染色。TPP 酶反应为反面潴泡的标志反应。

细胞的各种膜均有其特有的标志酶。在纯化后的高尔基复合体中，浓度比较高的酶有硫胺素焦磷酸酶和几种糖基转移酶，此外还有酸性磷酸酶、磷脂酶和溶酶体酶。其中，高尔基复合体中最典型的酶为糖基转移酶，利用专一性标记酶和组织化学方法的研究结果表明，高尔基池中含有许多加工寡糖链的酶，包括甘露糖转移酶、N－乙酰

半乳糖转移酶、N－乙酰葡萄糖胺转移酶、岩藻糖转移酶、半乳糖转移酶以及唾液酸转移酶，在大鼠肝的高尔基复合体组分中，这些转移酶特别丰富；此外，处于不同部位的高尔基池所含有的糖基转移酶的种类也不相同，如形成面的池含有使甘露糖和N-乙酰半乳糖糖基化酶，中部区域的池含有向寡糖链上转接N－乙酰葡萄糖胺的酶，而成熟面的池则含有向寡糖链上移接唾液酸、半乳糖和岩藻糖的酶。这些糖基转移酶的作用是把寡糖转移到蛋白质上，形成糖蛋白。除催化糖基转移酶外，在高尔基池中还含有催化脂类糖基化的磺基－糖基转移酶。糖基转移酶为高尔基复合体的标记酶。

第三节　高尔基复合体的功能

高尔基复合体在内膜系统中处于中介地位，它在对细胞内合成物质的修饰和改造中具有重要作用。许多重要大分子的运输和分泌都要通过高尔基复合体，因而高尔基体的膜也要不断地进行连续转变。综合起来，高尔基复合体的主要功能有如下几种:

一、形成和包装分泌物

高尔基复合体的主要功能之一是形成和包装分泌物。为了检验酶原颗粒等分泌物的合成部位、运输途径以及高尔基复合体的功能，L. Caro 和 G. Palade(1969) 设计了一个放射性示踪实验。他们将豚鼠的胰腺组织块浸入含有放射性标记氨基酸(^{3}H-Leu)的溶液中，以这种方式“脉冲(pulse)”标记 3 分钟后，利用放射自显影显示出，放射性标记只出现在内质网区。在脉冲标记 3 分钟后，再用非标记氨基酸“追踪(chase)”，那么根据追踪时间的长短不同，放射性出现的部位也不同。3 分钟脉冲标记后，再追踪 17 分钟，则放射性标记出现在邻近高尔基复合体的内质网区、高尔基池中以及高尔基体本身的分泌泡中。如果追踪 117 分钟，则放射性标记出现在近细胞顶端的酶原颗粒以及释放到细胞外的分泌物中。

这些实验观察结果表明，酶原颗粒的形成顺序可归结如下:

(1)蛋白质在糙面内质网处合成。

(2)新合成的蛋白质由内质网输往高尔基复合体。

(3)在高尔基区蛋白质被包上了膜，成了酶原颗粒的内容物。

(4) 新合成的酶原颗粒移至细胞顶部，随后同细胞质膜融合并将内容物释放到胰腺细胞外。

目前，大多数学者赞成分泌物的上述形成路线(图 7-9)。也就是说，由糙面内质网上的核糖体合成蛋白质，经内质网池输往靠近高尔基复合体的内质网，然后内质网以出芽方式将蛋白质包成过渡性小泡。小泡在高尔基体的形成面与高尔基池融合，经各层高尔基池依次外移，最后产物积累在成熟面的高尔基池中，这些池胀大并断裂下来形成圆的浓缩泡。浓缩泡的内容物可能由于失水而逐渐浓缩，转化成了分泌颗粒(酶原颗粒)，分泌颗粒具有电子不透明的特征。

分泌物形成之后，如果随即被排出细胞，这种分泌方式称为连续分泌(continuous secretion)，又称恒定型分泌(constitutive secretion)，如大多数可溶性分泌物均是以连续分泌的方式被分泌到细胞外的：如果先在分泌颗粒中贮存一段时间，待需要时再分泌

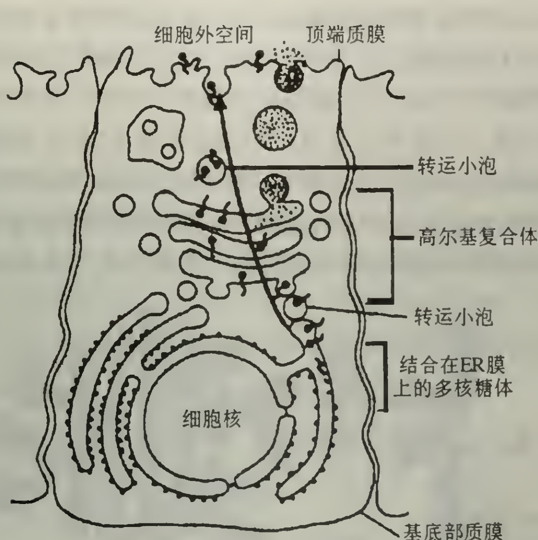


图 7-9　分泌物形成路线示意图(自 Alberts　1994)

至细胞外,则称为不连续分泌(discontinuous secretion),如贮存肽激素和胰蛋白酶的分泌泡(图 7-10)。分泌颗粒同质膜融合,开口将分泌物排出,而有些膜蛋白便整合到质膜上成为质膜蛋白。这部分分泌颗粒的膜同质膜融合后,质膜又可内陷形成小泡,返回高尔基区,重新被用来运送分泌产物。因此,一部分膜可在高尔基复合体与质膜之间进行穿梭载运。

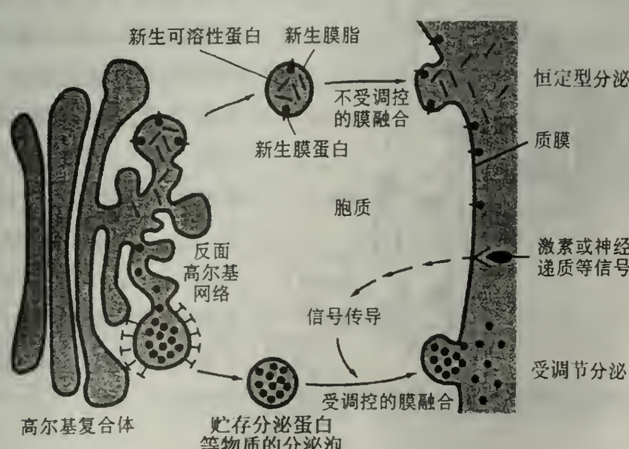


图 7-10　细胞内受调控(不连续)和不受调控(连续)的分泌途径(自 Alberts　1994)

高尔基复合体的反面高尔基网络对蛋白质还具有分拣(sorting)作用,可根据蛋白质所带有的分拣信号,将不同命运的蛋白质分拣开来,并以膜泡形式将其运输至其靶部位。糙面内质网合成的蛋白质,经高尔基复合体加工修饰后,大部分为分泌蛋白,但也有一部分并不被分泌到细胞外,而是被运往溶酶体或内质网,成为溶酶体蛋白(详见第八章溶酶体部分)或内质网的驻留蛋白。由高尔基复合体向内质网运送的是在高尔

基复合体上加工成熟后的内质网驻留蛋白，因为在高尔基复合体的个别潴泡中发现了内质网驻留蛋白 KDEL 驻留信号的受体。由此可见，KDEL 驻留信号不仅能使驻留蛋白直接驻留在内质网腔中，而且对已运往高尔基复合体加工修饰的内质网驻留蛋白也具有选择性的回收功能。内质网驻留蛋白的回运机制是，高尔基潴泡通过其膜上的内质网驻留蛋白受体来捕捉内质网驻留蛋白，集中至顺面高尔基网络中，再以膜泡的形式运回内质网腔，内质网腔内离子条件的改变又使内质网驻留蛋白与其受体分离，使受体可循环利用。经研究发现，内质网驻留蛋白的回运是沿微管进行的(图 7－11)。

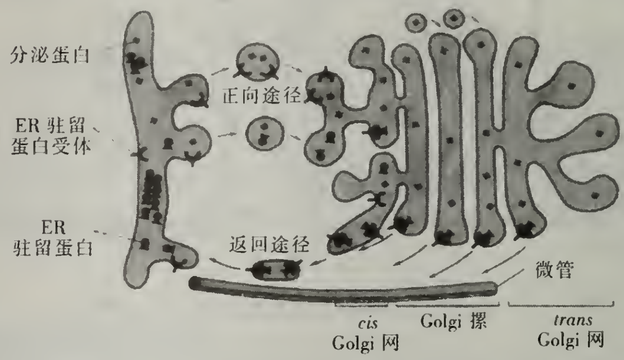


图 7－11　内质网驻留蛋白自高尔基体返回的途径与机制

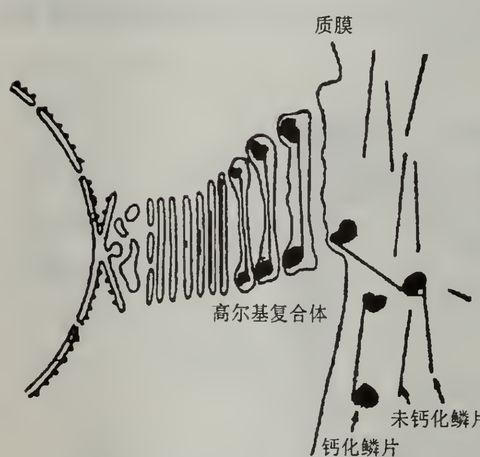


图 7－12　金藻纤维素鳞片形成过程示意图

植物细胞含有果胶质和纤维素的细胞壁物质也是在高尔基复合体上进行加工和包装的。在植物细胞分裂过程中，高尔基复合体以膜泡的形式将果胶质运到赤道面上，膜泡相互融合而成为成膜体，进而形成细胞的初生壁。因此，高尔基复合体在植物细胞壁的形成过程中也具有重要作用。藻类植物中金藻(*Chrysophyceae*)的纤维素鳞片也是由细胞分泌形成，鳞片的形成也经历了动物细胞分泌颗粒形成的类似过程(图 7－12)。

二、蛋白质和脂类的糖基化

在糙面内质网上合成的蛋白质，大部分都要进行糖基化修饰而形成糖蛋白，糖蛋白中的寡糖链在细胞内蛋白质的分拣和运送中具有一定作用。蛋白质的糖基化修饰主要在糙面内质网和高尔基复合体中进行。高尔基复合体中有多种糖基转移酶，可催化蛋白质和脂类的糖基化。为检验蛋白质发生糖基化的细胞部位，M. Neutra 和 C. P. Leblond(1969)把 ^3H 标记的葡萄糖注入到大鼠血液中，15 分钟后，放射性标记集中在

高尔基池和分泌小泡中；20 分钟后，放射性标记出现在黏液颗粒中；4 小时后，带有放射性标记的黏液被释放到肠腔中。此实验结果表明，葡萄糖是在高尔基复合体中被加到蛋白质上的，同时也说明，8～10 层高尔基潴泡，在 40 分钟内便把所有的蛋白质均转化成了黏液糖蛋白。

在真核细胞中，寡糖链一般仅连接到多肽链的天冬酰胺、丝氨酸、苏氨酸和羟赖氨酸 4 个氨基酸残基上。与天冬酰胺的氨基基团相连的寡糖链称为 N- 连接寡糖(N-linked oligosaccharides)；而与丝氨酸、苏氨酸和羟赖氨酸的羟基基团相连的寡糖链称为 O－连接寡糖(O－linked oligosaccharides)。两种寡糖的结构不同，其具体差别见表 7－1。高尔基复合体在糖蛋白形成过程中的主要作用是对糖蛋白中的寡糖链进行

表 7－1　N-连接寡糖与 O-连接寡糖的区别

	N-连接寡糖	O-连接寡糖
连接的基团	$-NH_2$	$-OH$
连接的氨基酸残基	天冬酰胺	丝氨酸、苏氨酸、羟赖氨酸
第一个糖残基	N-乙酰葡糖胺	N-乙酰半乳糖胺、半乳糖
糖链长度	5～25 个糖残基	1～4 个寡糖基，最多 5～6 个
合成部位	糙面内质网	高尔基体
糖基化方式	合成好的寡糖链一次性连接	糖残基单个添加

修饰。在内质网上合成的糖蛋白进入高尔基潴泡后，其寡糖链末端区的寡糖基被切去，同时再添加上一些新的糖基，如 UDP－葡萄糖、UDP－半乳糖和 UDP－唾液酸等（图 7－13）。在糖基化过程中，高尔基复合体的各部潴泡在功能上又高度分区化，处于不同部位的高尔基潴泡所含有的加工寡糖链的糖基转移酶的种类不同，因此，从形成面到成熟面的潴泡是按照一定顺序对寡糖链进行加工的。先参与对寡糖链加工的酶位置偏向于顺面，而后参与加工的酶偏向于反面。这种顺序性加工可能有利于糖蛋白的分拣，从而使高尔基复合体能对不同的糖蛋白进行分别包装，使其具有不同的命运，如有的可成为分泌物，有的成为质膜的整合膜蛋白，有的成为溶酶体酶(图 7－14)。蛋

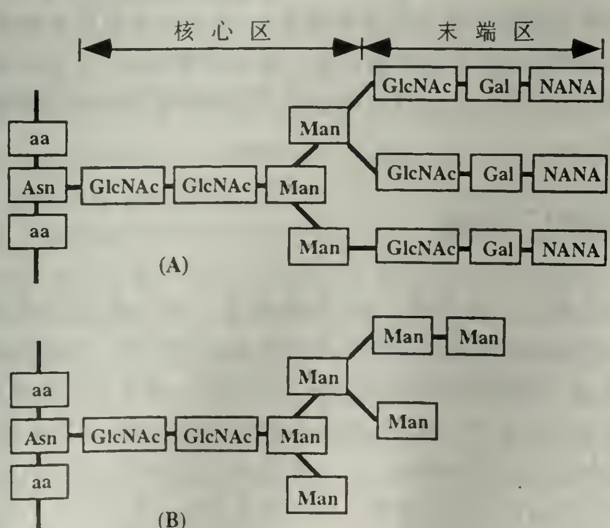


图 7－13　成熟糖蛋白中的两种主要的 N－连接寡糖链

(A)复合型寡糖；(B)高甘露糖寡糖　Asn. 天冬酰胺；Ser. 丝氨酸；Thr. 苏氨酸；GlcNAc. N- 乙酰葡糖胺；Man. 甘露糖；Gal. 半乳糖；NANA. N- 乙酰神经氨酸(唾液酸)

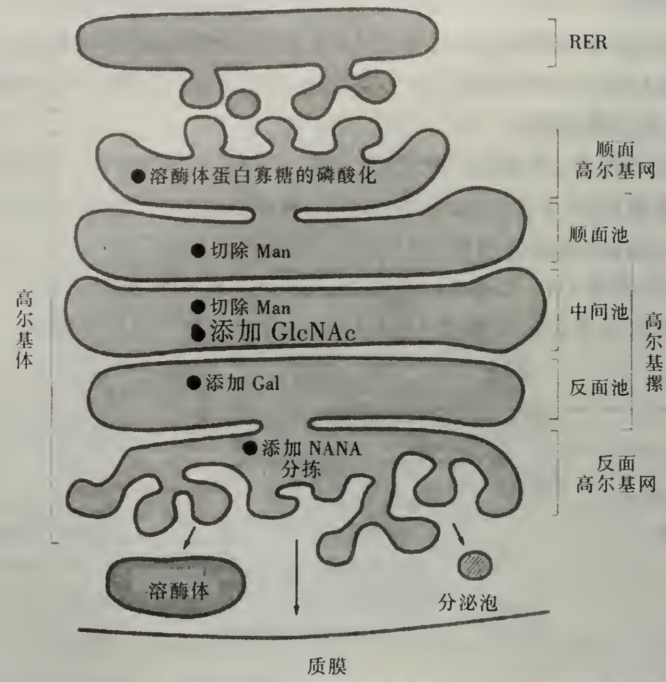


图 7－14　高尔基复合体对糖蛋白共价修饰的分区化

反面高尔基网，为蛋白质的分选部位

白质的糖基化并不单是分选信号，而且在蛋白质正确折叠、增加蛋白质的稳定性、抵御酶降解和参与细胞识别等方面都具有重要作用。在高尔基潴泡中加上的糖基比较复杂，但最末端一个往往是唾液酸，致使糖蛋白的末端常常呈负电性。此外，也有证据表明，糖蛋白的硫酸基也是在高尔基潴泡中加上去的。

高尔基复合体亦含有使糖鞘脂糖基化的磺基 - 糖基转移酶，在糖脂的形成中发挥作用。

在内质网和高尔基体中蛋白质多被糖基化，而在胞质溶质中的则不发生糖基化。蛋白质糖基化有多种作用：①保护蛋白质不被水解酶降解；②起运输信号作用，引导蛋白质被包装到运输泡中，抵达目的细胞器；③在细胞表面形成糖萼，起细胞识别和保护质膜的作用。

三、蛋白质的加工改造

在糙面内质网上合成的蛋白质有些是无生物活性的前体物，称为蛋白原(proprotein)，蛋白原必须经过加工改造才能具有生物活性。综合起来，加工方式可分为以下三种类型：①直接酶解切除新生蛋白原中的 N- 端或中间或两端的氨基酸序列，使之成为具有生物活性的蛋白质，如胰岛素和血清蛋白等；②新生蛋白原中含有多个氨基酸序列相同的区段，经酶解加工后，形成多个序列相同的具有活性的多肽链，如神经肽等；③新生蛋白原中含有数种不同的信号序列，经过不同的加工方式，可形成多种不同的活性多肽链，同时增加了分子的多样性，如一些信息分子等。下面我们来介绍一下胰岛素分子的加工过程。胰岛素分子是由 A 和 B 两条链经两个二硫键结合而成的，A 链含有 21 个氨基酸，B 链含有 30 个氨基酸。但胰岛素 mRNA 中却含有

330个密码子，在内质网核糖体上先合成前胰岛素原（preproinsulin）（带有信号肽序列）。前胰岛素原在进入内质网腔时，其N－端的信号肽被内质网膜上的信号肽酶切去，剩余的肽链进入内质网腔，成为胰岛素原。胰岛素原含有81～86个氨基酸残基(人86,牛81),除含有A链和B链外,还含有一段C链。进入高尔基池后，由转变酶切去C段肽链,从而成为有活性的胰岛素,并被包装成酶原颗粒。胰岛素和C段肽链在被排出胰细胞前,一直贮存在酶原颗粒中(图7－15)。

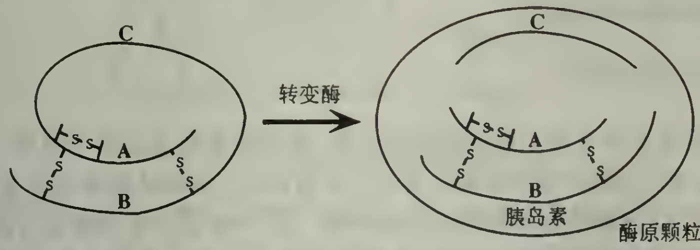


图7－15 高尔基复合体对胰岛素分子的加工改造过程图解

四、细胞内的膜泡运输

高尔基复合体在胞内运输、分泌小泡的外排和内吞小泡的运输过程中均具有重要作用(图7－16)。目前,对高尔基复合体膜泡运输的机制还了解不多,但一些实验结果表明,高尔基复合体中还有G蛋白（GTP binding regulatory protein, G protein）的存在，此G蛋白对高尔基复合体膜泡运输具有调控作用。

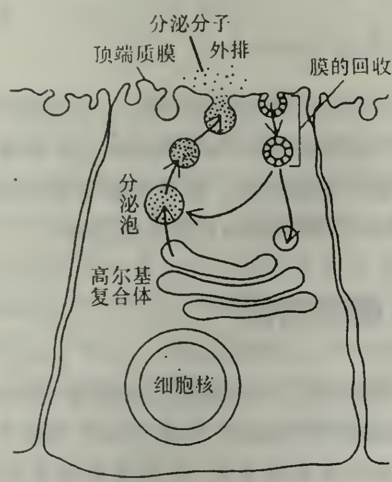


图7－16 分泌上皮细胞进行顶端分泌后膜的再循环

1. 从内质网向高尔基复合体的膜泡运输

在内质网上合成的蛋白质，以有被小泡的方式被运送到高尔基复合体进行加工、分拣和包装。内质网的特定区域(无核糖体附着区)将所合成的蛋白质等包入到以出芽方式形成的膜泡中,所形成的膜泡对被运送物没有特异的选择性。但在内质网上进入膜泡的蛋白质必须是已正确折叠和正确组装的，而那些还未完全包装好或错误折叠的蛋白质则不能进入运输膜泡,还需要留在内质网腔中。还未完全组装好的蛋白质一旦完成组装，便可被包装入膜泡中。那些折叠错误的蛋白质需要进行纠正修饰,这种纠正工作是由内质网中的一种称为结合蛋白(binding protiens, BiP)的分子伴侣蛋白来完成。在结构上BiP与hsp70蛋白(参见第十四章)相关,BiP蛋白亦具有识别折叠错误蛋白质的能力，它将蛋白质重新折叠成正确的构象后,才能被包装进膜泡。如果在BiP的帮助下仍不能折叠成正确构象,则会在内质网腔中被降解掉。但需要说明的是,分子伴侣在蛋白质正确折叠变化中仅起辅助作用,起决定作用的还是肽链的一级结构。由此可见,内质网的特定区

域在将合成的蛋白质包装成膜泡时，对合成物具有严格的检验和筛选功能，以确保运往高尔基复合体的蛋白质质量。

最近的研究发现，在内质网和高尔基复合体之间，除自内质网到高尔基复合体方向的膜泡运输外，还存在有由高尔基复合体向内质网方向的膜泡运输，这种反向运输是沿着微管进行的。实验证明，从内质网到高尔基复合体方向的膜泡运输，可为布雷菲德菌素 A（brefeldin A）（衣被小泡的衣被形成抑制剂）所抑制；而高尔基复合体向内质网方向的反向运输，则可被 nocodazole[甲基 -(5[2- 噻吩 - 羰基] -1H- 苯丙咪唑 -2-YL)氨甲酸]（微管抑制剂）阻断。

2. 分泌小泡的外排运输

在高尔基复合体上加工过的各种蛋白质，经分拣包装成分泌小泡后，要分别运送至各自的命运地。分泌小泡的运输主要有三种途径：① 溶酶体酶经高尔基复合体的单独分拣和包装，以有被小泡的形式运往溶酶体；② 分泌蛋白被包装成分泌泡，以衣被小泡的形式运往细胞质膜或分泌到细胞外；③ 其余的部分蛋白质被包装成分泌小泡后，暂时储存在细胞质中，一旦需要，再被释放到细胞外。如储存胰蛋白酶和肽激素的分泌小泡。

3. 内吞小泡的运输

受体介导的内吞运输中，以有被小泡的形式将外源物质吞入细胞后，内吞体便把所吞入的外源物质与受体分开，将外源物质送交溶酶体进行消化处理，同时也将部分受体运回细胞质膜，参与衣被小泡的再运输。也有一部分衣被小泡转运到高尔基复合体，参与溶酶体酶的衣被小泡运输。

五、膜的转化

膜转化是高尔基复合体的重要功能之一。前面已经提到，高尔基复合体无论是在厚度还是化学组成上均介于内质网膜与细胞质膜之间。新的膜在内质网上合成后，被转移到高尔基复合体，经过充分修饰后，在外排过程中高尔基复合体小泡同细胞质膜融合，修饰过的膜即加入到细胞质膜中。因此，高尔基复合体的膜在形成面近似于内质网膜，而在成熟面则近似于细胞质膜，介于二者之间的潴泡膜则呈逐渐过渡的形态。

在分泌细胞中，于反面潴泡区包装成分泌泡，分泌泡同质膜融合后，分泌物被排到细胞外，分泌泡的膜则成为质膜的一部分。这部分质膜在内吞过程中又可返回到高尔基复合体，成为潴泡膜。因此，在质膜和高尔基复合体之间有一部分膜可以被循环利用。另外，用 ^{3}H – 甘油和 ^{14}C 标记的膜前体物进行跟踪实验表明，磷脂是由内质网膜到高尔基复合体膜，最后到达细胞质膜（图 7 – 17），这一过程称为“膜流”，在此过程中膜逐步发生转化。

Grimstone（1959）在原生动物（Trichonympha）中发现，当动物饥饿时，新高尔基网体停止形成，糙面内质网的量也随之减少，甚至几乎完全消失。由于分泌泡仍在不断形成，因而使每一原有高尔基网体潴泡的数量减少。当动物被重新喂食后，形成了新的糙面内质网，并恢复了形成新高尔基网体的能力。

此外，一方面，内质网以有被小泡的方式将合成物运送到高尔基复合体，小泡膜

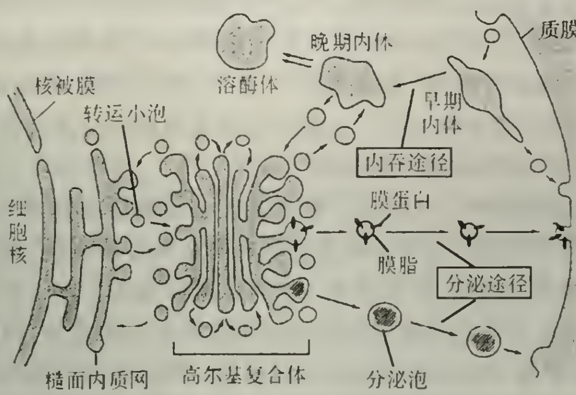


图 7-17 高尔基复合体在膜转化中的作用

被整合到高尔基复合体的顺面潴泡上；另一方面，在高尔基复合体向内质网的反向膜泡运输过程中，还可将部分膜转化为内质网膜，在由高尔基复合体向内质网进行膜泡运输过程中，也存在有膜的转化现象。

第四节 高尔基复合体的来源

关于新高尔基复合体的来源，目前有两种观点：①由内质网或核膜产生的小泡转化而来；②由原有高尔基复合体分裂而来。布雷菲尔德菌素实验结果支持了第一种观点，即内质网或核膜的外层产生的小泡移向高尔基网，形成高尔基潴泡。当用布雷菲尔德菌素处理细胞时，可阻断小泡由内质网向高尔基体的过渡，导致高尔基体完全消失，使原应进入高尔基体的蛋白质停留在内质网中。然而一旦除去布雷菲尔德菌素，细胞中又重新形成高尔基体，各种高尔基体蛋白进入到应存在的高尔基体潴泡。

在细胞质中靠近核膜或被内质网环绕的特定区域中，没有核糖体，称为排斥区(zone of exclusion)。在排斥区发现存在有处于早期阶段的小高尔基网。在高等植物的休眠种子中，一般没有高尔基网，但也存在有小泡集中的排斥区。通过缩时摄影观察，发现在种子的萌发过程中，在排斥区中能逐渐发育出高尔基网，与此同时排斥区中所聚集的小泡随之减少。表明排斥区中的这些小泡可能参与了高尔基网的形成。在蛙的卵母细胞中也发现了由排斥区中的小泡形成高尔基网的现象。

动、植物细胞在分裂时，子细胞中高尔基网的数目与亲代细胞的相同，说明在分裂时高尔基网的数量加倍了。高尔基网数量的增加发生在分裂中期和后期，但仍无法证明新增加的高尔基网由原有高尔基网分裂而来。可是有的学者却发现，多核藻类(*Botrydium granulatum*)在形成纺锤体之前，细胞的每一极只有1个高尔基网，但到中期后高尔基网加倍，纺锤体的每一极均有一对高尔基网分布在中心粒周围。

提 要

高尔基复合体又称高尔基器，系由成摞的扁囊叠置而成。这种充满液体的扁囊称为潴泡。潴泡的边缘部分连接有许多大小不等的表面光滑的小管网，其周围还存在有衣被小泡和无被小泡。一个成摞存在的潴泡又称为分散高尔基体，由5~8层潴泡组

成，构成了高尔基复合体的主体结构。有的细胞则含有若干个分散高尔基体。

分散高尔基体在结构和生化成分上具有极性，和内质网临近的近核一侧，潴泡弯曲呈凸面，称为形成面或顺面；在远核的一侧，潴泡呈凹面，称为成熟面或反面。从顺面到反面，潴泡膜的厚度逐渐增大。分散高尔基体周围的细胞质基质缺乏核糖体线粒体、叶绿体等细胞器，又称为高尔基基质。

在不同种类的细胞中，分散高尔基体的大小和数量也会有所不同，即高尔基复合体的结构是多种多样的。对高尔基复合体进行生化分析表明，其化学组成介于内质网和质膜之间。说明内质网、高尔基复合体和质膜在形成上有一定的顺序。

此外，高尔基复合体的各部潴泡均具有其特有的化学成分，如具有嗜锇成分、TPP酶、CMP酶和NADP酶4种标志细胞化学反应区。高尔基复合体的标记性酶为糖基转移酶。

高尔基复合体具有如下主要功能:

(1) 形成和包装分泌物。在RER上合成的蛋白质，集中在特定的内质网区域，然后以出芽方式将正确折叠的成熟蛋白质包成有被小泡。运往高尔基体，在形成面小泡与高尔基潴泡膜融合，再经各层高尔基潴泡依次加工修饰后，最后将产物积累在成熟面的高尔基潴泡中，这些潴泡胀大并断裂下来形成了浓缩泡。分泌物的分泌方式又分为连续分泌和不连续分泌。反面高尔基网络对蛋白质还具有分拣作用，根据蛋白质所带有的分拣信号，可将不同命运的蛋白质分拣开来，并经膜泡形式将其运输至其靶部位。

(2) 蛋白质和脂类的糖基化。高尔基复合体亦含有使蛋白质和脂类糖基化的糖基转移酶，在糖蛋白和糖脂的形成中具有重要作用。高尔基复合体进行糖基化的特点是，在切除内质网上所添加寡糖链的末端区糖基后，再加上新的糖基，且多为O-连接寡糖。高尔基复合体的各部潴泡中，从形成面到成熟面是按照一定顺序对寡糖链进行加工的。在高尔基潴泡中加上的糖基比较复杂，但最后一个往往是唾液酸。

(3) 蛋白质的加工改造。高尔基复合体对蛋白质的加工方式可分为三种类型: ①直接酶解切除新生蛋白原中的N-端或中间或两端的氨基酸序列，使之成为具有生物活性的蛋白质；② 酶解切断新生蛋白原中的多个氨基酸序列相同的区段，形成多个有活性的多肽链；③ 对含有数种不同的信号序列的新生蛋白原，经过不同方式的加工，可形成多种不同的活性多肽链。

(4) 细胞内的膜泡运输。在内质网的特定区域以出芽方式形成有被小泡，将所合成的正确折叠和正确组装的蛋白质运往高尔基复合体进行加工、分拣和包装。而在高尔基复合体上加工成熟的内质网网质蛋白又可被运回内质网。高尔基复合体对蛋白质进行加工和分拣后，将其包装成分泌小泡，一部分借助于有被小泡运往细胞质膜或分泌到细胞外，一部分以有被小泡的形式运往溶酶体，其余部分分泌小泡暂时储存在细胞质中。在受体介导的内吞运输中，外源物质以有被小泡的形式被吞入细胞。形成内吞体在把所吞入的外源物质送交溶酶体进行消化处理的同时，也会将部分受体运回细胞质膜，参与有被小泡的再运输，但也有部分有被小泡被转运到高尔基复合体，参与溶酶体酶的有被小泡运输。

(5) 膜的转化。在高尔基复合体的反面潴泡区包装成分泌泡，分泌泡同质膜融合，分泌物被排到细胞外，而分泌泡的膜则成为质膜的一部分；这部分质膜在内吞过程中又可返回到高尔基复合体，成为潴泡膜，因而在质膜和高尔基复合体之间有膜的转化

现象。此外，内质网在以有被小泡的方式将合成物运送到高尔基复合体、小泡膜被整合到高尔基复合体的顺面潴泡上的同时，在高尔基复合体向内质网方向的膜泡运输过程中，还可将部分小泡膜转化为内质网膜，在高尔基复合体向内质网之间也可进行膜的转化。

关于高尔基复合体的来源，一些实验结果显示，高尔基潴泡由内质网或核膜的外层产生的小泡形成。在动、植物细胞中的研究表明，高尔基网是由排斥区中的小泡形成的，且在分裂的中期和后期，高尔基网的数量加倍，平均分配到两个子细胞中。

复习思考题

1. 根据高尔基复合体的结构和功能，说明高尔基复合体在内膜系统中所承担的角色及其地位。
2. 在高尔基复合体上所进行的糖基化与内质网有何不同？蛋白质的糖基化有何生物学意义？
3. 高尔基复合体在蛋白质的加工、分拣、膜泡运输和膜转化中各承担了什么样的角色？其间的关系又如何？
4. 高尔基复合体各部潴泡在组化反应上的差异，说明了一个什么问题？与其生物学功能之间又有什么关系？
5. 植物细胞和动物细胞的高尔基复合体有何差异？产生这些差异的生物学意义有哪些？

主要参考文献

汤雪明，1985. 高尔基体的结构与功能．细胞生物学杂志，1，1～44；145～148

汪堃仁，薛绍白，柳惠图，1998. 细胞生物学，北京：北京师范大学出版社，138～149

翟中和等，1995. 细胞生物学．北京：高等教育出版社，129～139

郑国锠，1992. 细胞生物学（第二版），北京：人民教育出版社，244～270

Tartakoff A. M. & Turner, J. R., 1992. Fundamentals of Medical Cell Biology, Vol. 4, Membranology and Subcelluar Organelles, JAI Press Inc., 283～304

Alberts, B. *et al.*, 1998. Essential Cell Biology. Garland Publishing, Inc., New York and London, 458～472

Alberts B. *et al.*, 1989. Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, Inc., New York & London, pp. 551～617

Avers, C. J., 1986. Molecular Cell Biology. Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts. 246～263

Compans R. W., 1991. Protein Traffic in Eukaryotic Cells, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg

De Robertis & De Robertis, 1980. Cell and Molecular Biology. 501～518. Saunder College, Philadelphia. pp. 206～225

Giese, A. C., 1984. 细胞生理学，北京：科学出版社，128～133

Karp, G., 1984. Cell Biology, 2nd ed., McGraw-Hill Book Company, New York. pp. 252～265

Matlack, K. E. S., Mathes, W., and Rapoport, T. A., 1998. Protein Translocation: Tunnel Vision. Cell, 92(3): 381～390

Rambourg, A. & Clermont, Y., 1990. Three-dimensional Electron Microscopy: Structure of the Golgi Apparatus. European Journal of Cell Biology, 51: 189～200

Burgess, T. L. & Kelly, K., 1987. Constitutive and regulated secretion of proteins. Ann. Rev. Cell Biol. 3: 243～293

De Duve, C., 1975. Exploring Cells with A Centrifuge, Science, 189, 186

Dunphy W. J., & Rothman, J. E., 1985. Compartmental organization of the Golgi stack. Cell, 42: 13～21

Griffiths. G. & Simons K., 1986. The trans Golgi network: Sorting at the exit site of Golgi Complex. Science, 234: 438～443

Kelly R. B., 1985. Pathways of protein secretion in eukaryotes. Science, 230: 25～32

Rothman, J. E. & Lenord, E. J., 1984. Membrane traffic in animal cells. Trends in Biochemical Science, 9: 176

溶酶体和微体

在内膜系统中，除内质网、高尔基复合体和核膜外，还有两种具有重要功能的膜性细胞器，可视为内膜系统的产物，即溶酶体(lysosome)和微体(microbody)。

第一节 溶酶体

溶酶体是发现较晚的一种细胞器。直到1949年，C. de Duve等人在研究大鼠肝匀浆中与糖代谢有关的酶的分布时，以与糖代谢无关的酸性磷酸酶为对照，经测定，酸性磷酸酶活性主要存在于线粒体组分中。但却发现用蒸馏水处理的组织中其酸性磷酸酶的活性要比悬浮在蔗糖液中的高，且放置时间久的材料其酶活性要比新鲜材料的高。酶活性与久置材料中的沉降颗粒无关。由此推想，细胞内存在有某种结构，该结构中含有酸性磷酸酶活性，其膜很可能非常敏感易碎，破碎后可释放出内含物。这些现象的出现和上述设想均促使de Duve开始去寻找一种含有酸性磷酸酶活性的结构实体。直到1955年，de Duve研究组终于找到了这种结构实体，遂将其命名为溶酶体(lysosome)。现已证实，溶酶体确是一种普遍存在于动物细胞中的膜围细胞器。

一、基本特性

溶酶体是一种由单层膜包围的含有多种酸性水解酶的异质性囊泡状细胞器，普遍存在于所有动物细胞中。植物细胞中虽无单独存在的溶酶体，但大多数植物和真菌细胞含有一个或几个大的充满液体的膜泡，称为液泡(vacuoles)，它起着溶酶体的作用。液泡具有多种功能：储存养料和废物的存储器，如圆球体(spherosome)、糊粉粒(aleurone)及蛋白质小体(protein body)等；含有多种酸性水解酶，如脂肪酶、酸性磷酸酶等，是降解多种物质的场所；调节细胞体积；控制膨压。在同一个细胞中，存储液泡和消化液泡可同时共存。

在细菌细胞中没有溶酶体，可是有些细菌细胞在其细胞壁与质膜之间的质周隙中含有水解酶，因而质周隙也起着类似于溶酶体的作用。



图8-1 培养的成纤维细胞的暗视野显微镜图片
示含致密物质的溶酶体(白点)分布在核
(黑色)周围的胞质中

(一)形态和大小

溶酶体遍布于整个细胞质中(图8-1)，它在细胞内的分布和移动，同溶酶体膜与微管之间的相互作用有关。在不同细胞甚至在同种细胞中，溶酶体的形态和大小差异较大，是一种异质性的细胞器。溶酶体多呈球形，有的可呈卵

圆形等;溶酶体的直径一般为 0.2 ~ 0.8μm, 最小仅有 0.05μm,最大可达数微米,平均大小在 0.5μm 左右, 介于线粒体与微体之间 (图 8 - 2), 如肝细胞溶酶体的直径为 0.4μm。

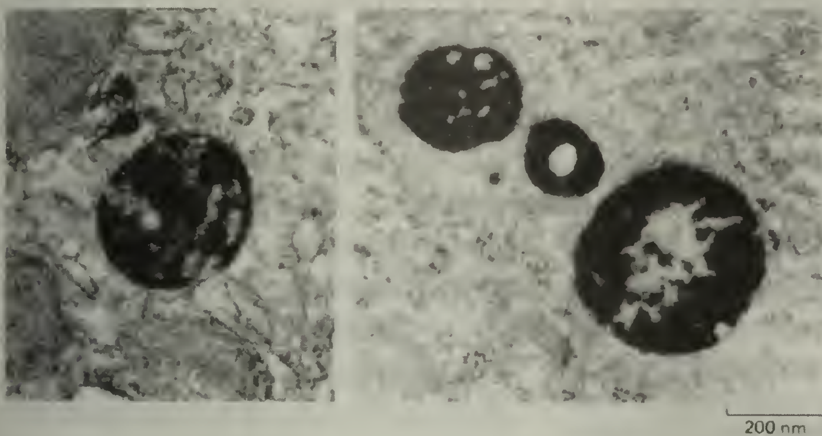


图 8 - 2　溶酶体中酸性磷酸酶分布电镜图

酸性磷酸酶是溶酶体的标志酶,含酸性磷酸酶的膜泡即为溶酶体。

图中较大的溶酶体为正在进行消化的次级溶酶体;

左图中从高尔基复合体而来的含水解酶的小泡为新生的初级溶酶体(箭头所示)

(二) 化学组成

1. 溶酶体膜

溶酶体外为一层由双层磷脂构成的厚约 7 ~ 10nm 的单位膜所包围。溶酶体膜并非仅仅是简单地为消化作用提供一个密闭空间,它还可利用其渗透性来控制该空间中的成分和内环境,而且还具有能与其他膜泡融合和内陷的能力。利用冰冻蚀刻电镜技术,在其磷脂双层中发现了许多颗粒。在溶酶体膜的内侧或胞质面存在有一个低电子密度的晕圈 (halo), 晕圈出现了碳水化合物的阳性染色反应, 但对其结构还所知甚少。几种整合膜蛋白在胞质面伸出的许多酸性复合糖链(glycans),可能参与了晕圈的形成。据认为,晕圈可保护这层膜不被溶酶体水解酶所降解,或可结合正在被消化的物质。胶体金免疫电镜结果显示,在此区域中没有可溶性溶酶体水解酶的存在。这层膜对溶酶体本身的水解酶具有抗性,但经低渗液或表面活性剂(如 Triton 100)处理后,则会变脆而易于破碎。这层膜在成分上与其他生物膜也有所不同: ①膜蛋白高度糖基化,可抵御其内水解酶的降解;②含有多种载体蛋白,可及时将水解产物转运出去;③膜中嵌有质子泵 (H^+ - ATPase),利用 ATP 的能量可将 H^+从胞质溶质泵入溶酶体内,形成和维持一酸性内环境,有利于溶酶体酶的活性。

(1) 膜脂: 由于溶酶体的异质性和很容易被其内的溶酶体酶所污染, 因此很难准确地确定其膜的化学组成。其膜脂成分绝大多数均为磷脂,此外还含有少量的磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇和磷脂酰丝氨酸等,且在不同膜制品中这些组分差异较大。溶酶体膜在化学组成上与其他细胞膜的主要差异是它含有多萜醇 (dolichol) 的衍生物和 bis 单酰甘油磷酸(bismonoacylglycerylphosphate)。

(2) 膜蛋白:最近,在小鼠、大鼠、鸡和人中鉴定出了溶酶体膜蛋白的一个家族,称

为溶酶体结合膜蛋白（lysosomal-associated membrane protein，LAMP）和溶酶体整合膜蛋白（lysosomal integral membrane protein，LIMP），又可简称为溶酶体膜糖蛋白(lysosomal membrane glycoprotein)。在其典型结构中，组成了一个 20～60kDa 大小的高度糖基化的蛋白质核心，连接在蛋白质的天冬酰胺上的寡糖链已经加工成熟，在末端含有唾液酸；且寡糖成分约占其重量的 50%。因此，蛋白质呈酸性，等电点很低（PI 2～4)。在同一物种中的不同蛋白质以及不同物种中的同类蛋白质之间具有相当大的氨基酸序列同源性，蛋白质的克隆实验表明，在其功能区结构上甚至具有更高的同源性。其结构包括一个短的 N- 端信号肽、一个高度糖基化的胞质区或腔内区、一个单次跨膜区段和一个由 11 个氨基酸组成的短的 C－端胞质尾巴。高度保守的 C－端胞质尾巴可能是这类蛋白质从高尔基复合体向溶酶体运输的通用识别信号，因为改变或使 C－端胞质尾巴缺陷均可阻止这类蛋白质向溶酶体的定向转运。由此可见，N－糖基化并非这些蛋白质的必需转运信号。LIMP 蛋白结构的高度保守性表明，它们均是由同一个祖先基因进化而来的。

2. 溶酶体酶

迄今发现，溶酶体含有的水解酶有 60 多种以上，其中包括蛋白酶、核酸酶、脂酶、糖苷酶、磷酸酶、磷脂酶和硫酸酯酶等，可将蛋白质、核酸、糖类和脂类等绝大多数生物大分子水解成可为细胞所能吸收利用的小分子(表 8－1)。这些酶的最适 pH 值一般为 3.5～5.5，故称其为酸性水解酶(图 8－3)。这些酶的活性在不同细胞、不同组织和不同个体中性质是一样的。溶酶体酶的种类虽然很多，但每一个溶酶体中所含有酶的种类却是有限的，也就是说，各个溶酶体含有不同的酶组合。在某些特化的细胞中，还会产生一些在绝大多数溶酶体中并不存在的特殊代谢酶类，如在嗜中性白细胞(neutrophil)中的溶菌酶(lysozyme)和髓过氧化物酶(myeloperoxidase)(通过催化过氧化氢和氯离子形成次氯酸来破坏吞噬异物的酶)，参与降解吞入的微生物。

表 8－1　溶酶体含有的主要酶类及其作用底物

降解底物		酶的种类
蛋白质	多肽链	内肽酶，外肽酶，胶原酶，顶体酶
	糖蛋白	糖胺酶，糖基化酶
	磷蛋白	磷蛋白磷酸化酶
多糖	糖原	酸性麦芽糖酶
	蛋白聚糖	内糖苷酶，外糖苷酶，溶菌酶，硫酸酶
脂类	糖脂	芳基硫酸酶 A、N－脂酰鞘氨醇，糖苷酶
	神经脂	三酰甘油酯酶，胆碱酯酶
	磷脂	磷脂酶，磷酸二酯酶
核酸和核苷酸		核酸酶，核苷酸酶，核苷酸硫酸化酶，焦磷酸酶
其他水解酶		芳基酯酶，酸性磷酸酶
氧化还原酶		髓过氧化物酶

溶酶体中水解酶的含量很高。据测定，在人肝细胞的溶酶体中，组织蛋白酶(cathepsin) B 和 D 的含量可达到毫摩尔水平；在嗜中性白细胞中，骨髓过氧化物酶的

含量约占细胞总蛋白含量的 1%。

在完整的初级溶酶体中，水解酶处于潜伏状态。如果溶酶体膜的脆性异常，一旦破裂，释放出所含有的水解酶，有时会把整个细胞消化掉，甚至还要波及到周围的组织。溶酶体酶催化水解反应的通式一般为：

$$R_1-R_2+H_2O \xrightarrow{\text{水解酶}} R_1-H + R_2-OH$$

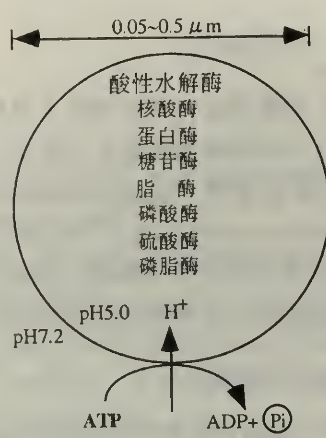


图 8－3 溶酶体中酸性 pH 值维持的机制

溶酶体膜上的质子泵利用 ATP 提供的能量不断把 H^+ 抽取到溶酶体中，使溶酶体中的酸度保持在 ~pH5

二、溶酶体与内吞作用

吞噬细胞通过质膜内陷，包围了内吞物质，形成了初级内吞小泡(primary endocytotic vesicle)。小泡最后同溶酶体融合，所含的内吞物质被水解酶所消化。消化后所剩的残余物通过外排途径排出细胞外。因此，内吞和外排作用共同组成了一套循环过程。这一过程的变化一般是和溶酶体的活动密切配合的(图 8－4)。

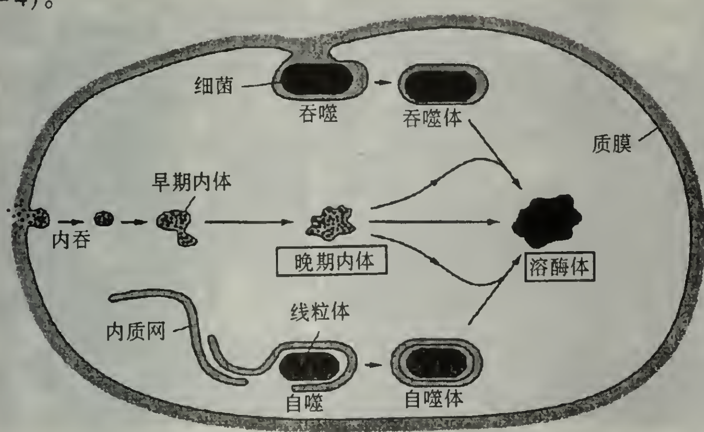


图 8－4 溶酶体降解底物来源的三条途径(自 Alberts 1994)

溶酶体在进行细胞内消化方面起着关键作用。根据溶酶体所处的生理状态不同，又可将其分为初级溶酶体、次级溶酶体和残余小体。新形成的溶酶体，在未同消化物融合之前，其中的水解酶没有活性，一直处于贮存状态，叫初级溶酶体 (primary lysosome)。初级溶酶体多呈球形，不含有明显的颗粒或膜的碎片。

当初级溶酶体融入来自细胞外或细胞内的消化物后，所形成的复合小体则称为次级溶酶体(secondary lysosome)。次级溶酶体较大，形状常常不规则，且含有正在进行消化的颗粒或膜碎片，为正在进行消化的溶酶体。如果所消化物质是来自细胞外的外源性物质，称为异噬溶酶体(heterophagic lysosome)。若消化物为来自细胞自身的内源性物质，则称为自噬溶酶体(autophagic lysosome)。次级溶酶体对外源或内源性物质进行消化后，消化不了的物质将继续留在溶酶体内，这种完成消化后仍含有消化不了的残留物质的溶酶体，又称为残余小体(residual body)或三级溶酶体(tertiary lysosome)。

1. 异噬溶酶体

细胞通过内吞作用吞入异物，形成吞噬泡和胞饮泡，这些初级内吞小泡（异噬小泡）与初级溶酶体融合后形成了异噬溶酶体。如果所消化物质来自吞噬泡，又可称为吞噬溶酶体（phago－lysosome）；若消化物来自胞饮泡，则可称为多泡小体(multivesicular body)。吞入物质在异噬小体中逐渐被水解酶所消化。由溶酶体消化降解后形成的小分子物质，通过溶酶体膜上的载体蛋白，可及时转运到细胞质基质中，供细胞进行各种代谢反应使用。

2. 自噬溶酶体

细胞内包围了多余或衰老的细胞器(如线粒体和内质网等)、正在进行消化的溶酶体，称为自噬溶酶体(图 8－5)。被包围的自身细胞器一般是一些衰老或多余的细胞器，通过溶酶体酶消化可起到清除细胞内无用或多余细胞器的作用。此外，当细胞处于紧急状态时，溶酶体也能对其正常细胞器进行消化。例如，饥饿时的肝细胞中有许多含有线粒体残片的自噬溶酶体，表明细胞在不损伤细胞本身的前提下可将部分自身成分降解，以产生营养物质供细胞急需。

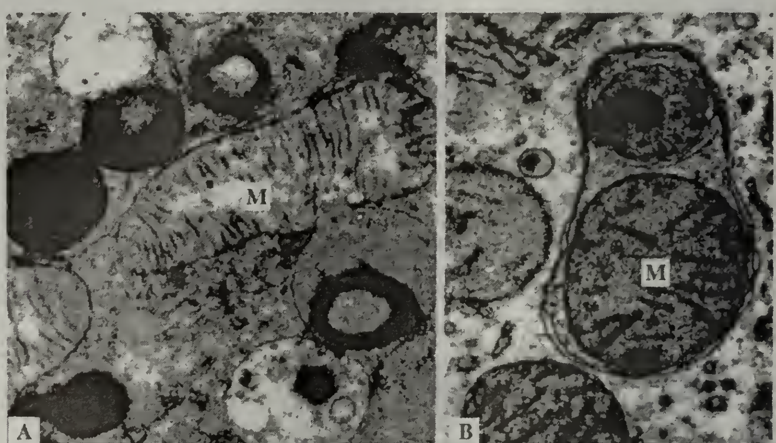


图 8－5　小鼠肾近曲小管上皮细胞中自噬溶酶体电镜图(自 Friend, D. 1990)
A. 溶酶体开始吞入线粒体；B. 示线粒体被吞入消化

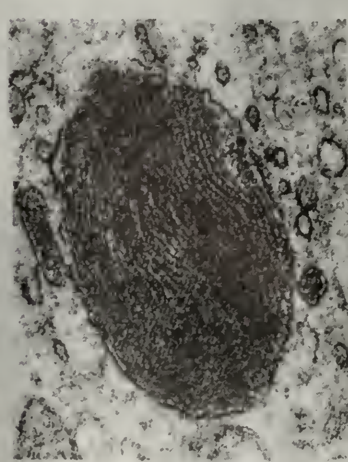


图 8－6　人肺泡巨噬细胞中髓样小体电镜图

3. 残余小体

次级溶酶体中消化不掉的物质则会残留在溶酶体内，形成残余小体。自噬小体中的成分被消化后，可使残余小体呈现为不同的形态，如呈多泡状的多泡小体、环层状的髓样小体等(图 8－6)。一般，在正常生理状态下，残余小体中的残余物可通过外排作用被排出细胞外。但当机体生理状态不佳时，有些残余小体中消化不掉的残余物因无法排出而长期残留在细胞内，如老年斑即为残留在老年时细胞内的残余小体——脂

褐质小体。

三、内体与膜的再循环

在前面我们曾谈到，细胞的内吞和外排活动有一定的连续性，在此过程中膜可被再利用。近几年来的研究表明，内吞作用伴随有膜的再循环过程。

胞外分子（配体）同质膜上的专一受体结合而被吞入胞内的过程为受体介导内吞（receptor – mediated endocytosis）。过程开始时，笼形蛋白同质膜内表面的一定区域相结合，在质膜上形成有被区（coated region）。穿膜的受体分子中有可同衣被结合的部分，因而配体和受体结合成复合物可向有被区汇集。与此同时，有被区内陷，形成有被小窝（coated pit）。小窝进一步内陷，脱离质膜进入细胞质，成为有被小泡（coated vesicle），此即初级内吞小泡。有被小泡进入细胞内质后，随即脱去衣被，变为平滑小泡，脱下的笼形蛋白又返回质膜，重新参加其他有被小泡的形成。

初级内吞小泡中的配体 – 受体复合物发生解离后，配体与受体即被分拣开，这一变化和内体（endosome）作用有关。内体的功能是运输和分拣内吞物质。有实验表明，内体是一种中间型小泡，而不是由质膜内陷形成的初级小泡。内体同脱去衣被的平滑小泡融合，使小泡内的 pH 值下降，造成了一种酸性环境，在低 pH（5 ~ 6）环境中，配体与受体解离。在融合的内体中，解离的配体与受体分开，分别集中到不同区域。在电镜下显示出，融合内体呈葫芦形，可分为管形部和球形部两部分。管形部的膜来源于初级内吞小泡膜，而球形部膜则为内体膜。配体与受体被分拣到不同的膜区，受体集中在管形部的膜上，配体则集中到球形部的腔中。管形部与球形断开，携带受体，以外排的方式返回质膜，重新变为质膜的一部分，余下的球形部小泡则携带配体同溶酶体融合，形成了次级溶酶体。由此可见，在此过程中质膜和受体可被反复利用，构成了膜的再循环（图 8 – 7）。低密脂蛋白（LDL）的内吞即属于这种方式。据计算，动物细胞每小时内吞的质膜的面积可达整个质膜的 200%。

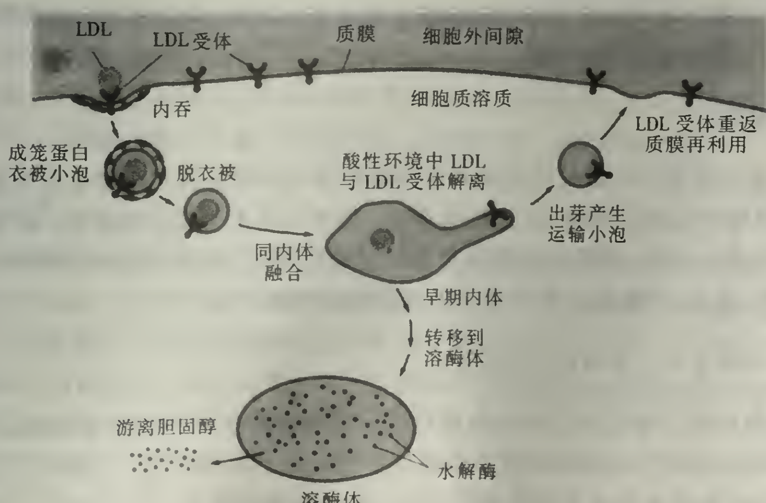


图 8 – 7　低密度脂蛋白（LDL）的受体介导内吞作用

示内体在膜再循环中的作用

内吞活动和膜的再循环过程也有与溶酶体无关的，例如铁传递蛋白（transferrin）向

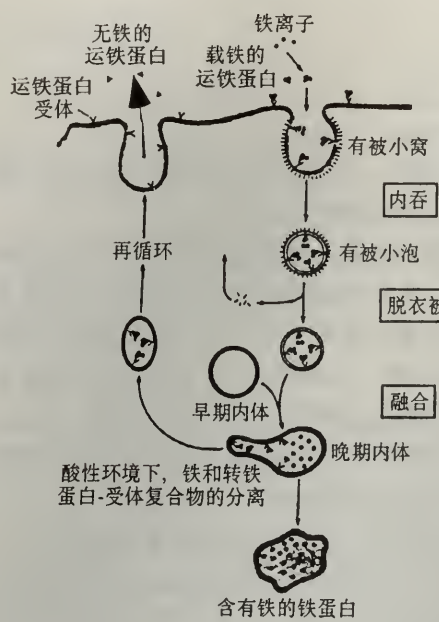


图 8-8　运铁蛋白的受体介导内吞过程中蛋白质分拣和受体再循环示意图(自 Avers　1986)

细胞内转运铁的活动即是如此。每个运铁蛋白分子可结合 2 个铁原子。载有铁原子的运铁蛋白可同质膜上的运铁蛋白受体结合，形成有被小窝，进而将铁原子运入细胞内。卸掉铁原子的运铁蛋白仍和其受体结合在一起，共同返回细胞表面，受体仍存在于质膜上，运铁蛋白被排往细胞外，二者再被重新利用（图 8-8)，此也是膜的再循环之一例(参见第四章)。

四、溶酶体的功能

溶酶体的结构非常简单，但却含有多种水解酶，因此其功能无不与酶的活动有关，即其最基本的功能均与进行细胞内消化有关。

1. 细胞内消化

溶酶体是细胞内的消化细胞器，可降解细胞吞入的异物，以获得其营养成分，供细胞代谢使用。在饥饿状态下，为了保证细胞进行正常的生理活动，溶酶体甚至可以降解细胞自身的生物大分子。次级溶酶体中的物质被消化后，可产生多种有用的产物，如氨基酸和糖等。这些物质可穿过溶酶体膜进入胞质溶质，参加正常的细胞代谢而被吸收利用。其中，一些小分子，如单糖、氨基酸和核苷等，可顺浓度梯度进行穿膜运输；而二糖和单核苷酸等则不能顺浓度梯度进行穿膜，必须依赖于特异性的载体蛋白和 ATP 才能进行穿膜运输。

2. 防御功能

人和动物体内的颗粒白细胞和巨噬细胞等可吞噬细菌和病毒等有害物，并将其送至溶酶体进行消化降解，以杀死有害物，保护机体不受感染或致病；如嗜中性白细胞将微生物吞入后，利用其溶菌酶和骨髓过氧化物酶，对微生物进行降解，以杀死有害微生物，而且，降解后的营养成分还可供细胞代谢使用。

3. 细胞内衰老和多余细胞器的清除

细胞内的生物大分子和细胞器均有一定的寿命。为了保证细胞的正常生理功能，必须由溶酶体及时清除掉那些衰老的生物大分子和细胞器。溶酶体可把自身衰老和多余的细胞器包围起来形成自噬小体，将细胞器消化后，有用物质还可被重新吸收利用。自噬现象是真核细胞中进行细胞成分更新和转化的基本特性，清除多余的细胞器还有利于细胞的代谢和生存。溶酶体还能清除暂时不需要的酶或某些代谢产物。因此，溶酶体享有“细胞内清洁工”的美誉。

4. 发育过程中清除细胞的功能

动物在发育过程中除了要进行细胞增殖外，在发育的一定阶段，还要在一定的部位清除一些细胞，以保证机体的正常发育。例如，无尾两栖类在变态时，蝌蚪的尾部要退化，尾部的退化便是靠尾部溶酶体的组织蛋白酶（一种蛋白水解酶）的消化作用来完成的。随着尾部的消化，尾部组织蛋白酶的浓度不断增大并释放，将大量尾部细胞消化掉。尾部组织蛋白酶的释放，与体内甲状腺素的增加有关，在变态阶段甲状腺素的增加可促使组织蛋白酶的释放(图 8-9)。

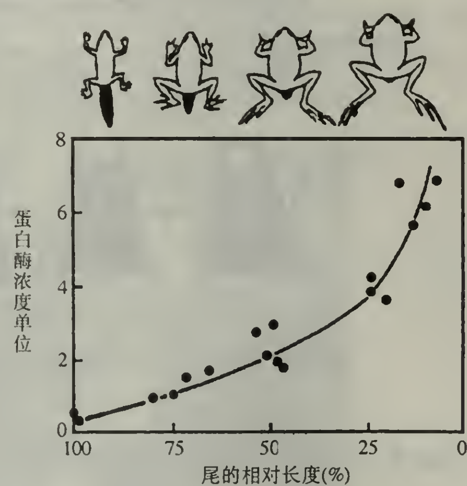


图 8-9　在蝌蚪变态为蛙的过程中，尾部溶酶体的组织蛋白酶活性与尾长度的关系

哺乳动物胚胎性器管的发育和退化，也是一个与溶酶体消化作用有关的极好例证。在发育早期，胚胎产生了两套生殖管即吴尔夫管(Wolffian ducts)和米勒氏管(Mullers ducts)，后来，随着发育的进行，在雌性个体中，米勒氏管发育成输卵管，而吴尔夫管退化；而在雄性个体中，吴尔夫管发育成输精管，米勒氏管则退化；在退化过程中，退化器官中溶酶体酶的活性增大，以消化掉分化过程中无用器官的细胞。此外，断奶后乳腺的退化也涉及溶酶体对无用细胞的清除作用。

此外，在正常情况下，机体内的某些细胞也有一定的寿命，如红细胞为 120 天，衰老的细胞也必须由某些细胞中的溶酶体来及时清除，以维持机体的正常生理功能。机体内衰老细胞的清除作用主要由巨噬细胞来完成。

然而，需要说明的是，溶酶体的活动受到严格的调控，在正常生理条件下，溶酶体不会对细胞的生存构成威胁，这是因为：①构成溶酶体膜的蛋白质高度糖基化，可抵御水解酶的降解，不会轻易破裂；②溶酶体酶的活性的最适酸度为 pH ~ 5，而胞质溶质的酸度为 pH ~ 7.2，溶酶体酶一旦离开溶酶体进入胞质溶质，活性即会丧失。

5. 受精中的功能

在动物精子的头部顶端的质膜内有一个由膜包围的囊状结构，称为顶体(acrosome)(图 8-10)。顶体实为一特化的溶酶体，它含有多种水解酶，如顶体蛋白、透明质酸酶、神经氨酸酶、酸性磷酸酶和蛋白酶等。精子的头部顶端一旦接触到卵子外被，顶体膜便与质膜融合，释放出水解酶，分散卵子周围附着的滤泡细胞和消化卵子被膜，为精子抵达卵子质膜开辟通道。

6. 植物种子萌发中的功能

在植物中，虽没有典型的溶酶体，但仍存在有类似的结构，如蛋白质小体、糊粉粒和淀粉粒等，具有类似溶酶体的功能。在植物的种子中含有蛋白质小体、糊粉粒和淀粉粒，在种子萌发时，这些小体便可释放出 α – 淀粉酶等多种水解酶，可水解种子内的

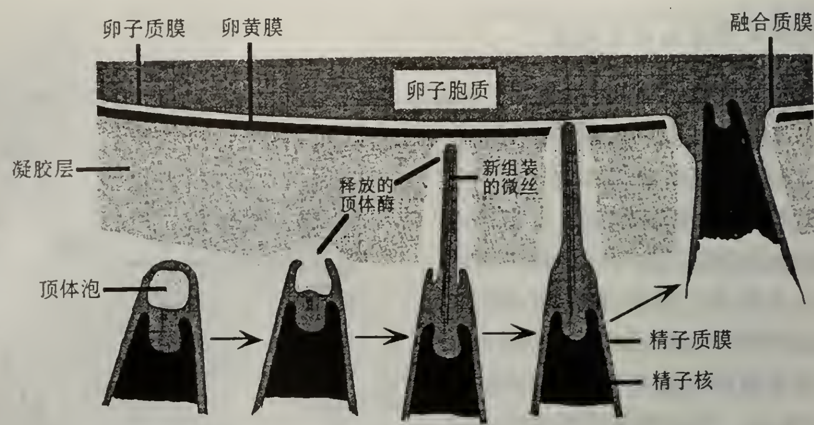


图 8-10 精子头部的顶体在受精过程中的作用图解(自 Alberts 1994)
顶体为精子中特化的溶酶体

贮存物质,以供种子萌发和早期生长之用。

五、溶酶体与疾病

溶酶体虽然在机体的防御系统中发挥重要作用,但在某些情况下,有些疾病也与溶酶体有关。目前已知,与溶酶体有关的先天性疾病有30余种,其中绝大部分是由于缺乏某些溶酶体酶,导致某种物质在组织中大量积累,从而造成疾病。现介绍几例与溶酶体有关的常见疾病。

1. 肺结核

结核杆菌的外表有一层厚的蜡质外被,被吞噬后,此外被可保护细菌以抵御溶酶体水解酶的消化作用。因而结核杆菌可抗白细胞和吞噬细胞的侵袭,使机体受到感染。

2. 矽肺

肺部所吸入的二氧化硅颗粒,可为肺部的吞噬细胞所吞噬。但吞入的二氧化硅颗粒不能被溶酶体酶所消化,却在颗粒表面形成硅酸。硅酸的羟基和溶酶体膜的受体分子可形成氢键,使膜被破坏,释放出水解酶,从而可导致细胞死亡。结果便刺激成纤维细胞产生胶原纤维小结,造成肺组织的弹性降低,使肺受到损伤,呼吸功能下降。

3. 贮积病

在与溶酶体有关的先天性疾病中绝大部分是属于这一类。当溶酶体酶缺失和异常时,某些物质不能被消化降解,而遗留在溶酶体内,便会影响细胞的代谢功能,引发疾病。这类疾病多为先天性的,是由于与某种物质代谢有关的溶酶体酶的基因发生突变,因而无法水解该物质,使其在细胞中积累。如溶酶体酶中 α-糖苷酶和硫酸酯酶等缺失或异常时,便无法降解糖脂和黏多糖,结果使糖脂和黏多糖在组织中大量积累,造成贮积病。

如Ⅱ型肝糖病(glycogenosis),在肝和肌肉细胞中出现充满糖原的细胞器,这种病是由于溶酶体内缺少把糖原降解为葡萄糖的 α-糖苷酶。又如黑朦性先天愚病(Tay-Sachs disease),患这种病的儿童,其脑组织中的一种糖脂 β-神经节苷脂高于正常值的 100~300 倍。这种病是由于组织的溶酶体中缺少了 β-氨基己糖脂酶,因而不能降解神经节苷脂分子。病儿的溶酶体中含有大量神经节苷脂的同心圆状膜(图 8-11)。如果发生在神经细胞中,就会造成精神痴呆,大约 2~6 岁便会死亡。

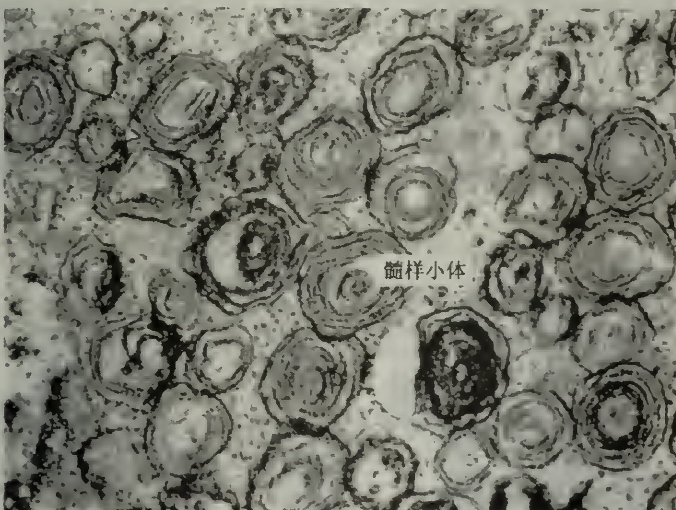


图 8-11　黑蒙性先天愚型病患儿神经元中的次级溶酶体照片
由于糖脂不能被降解,而呈同心圆状膜贮积在溶酶体中

4. 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis)

该种病人的溶酶体膜的脆性增加,溶酶体酶被释放到关节处的细胞间质中,使骨组织受到侵蚀,引起炎症。肾上腺皮质激素有稳定溶酶体膜的作用,因而可被用来作为治疗类风湿关节炎的抗炎剂。

六、溶酶体的发生

关于溶酶体的来源,一般认为,溶酶体酶靠其 N-端信号肽引导到糙面内质网上进行蛋白质的合成和糖基化,再运到高尔基复合体上进行加工修饰后被单独分拣包装产生。

但在形成过程中,溶酶体酶与分泌蛋白是如何被分拣出来的呢?经过研究发现,溶酶体酶在糙面内质网上合成并经过糖基化修饰后,被转移至高尔基复合体,在顺面的潴泡中 GlcNAc 磷酸转移酶催化寡糖链上的甘露糖残基发生磷酸化形成了甘露糖-6-磷酸(mannose-6-phosphate, M6P)(图 8-12)。在高尔基复合体反面的潴泡和管网膜上存在有 M6P 的受体(mannose-6-phosphate receptor, MPR),M6P 受体是一种跨膜糖蛋白,对 M6P 具有高度特异性。因此,靠 M6P 受体与 M6P 的特异性结合便可把溶酶体酶从其他蛋白质中分拣出来,进行浓缩,最后以出芽的方式被包装成衣被小泡,直接转运到溶酶体中。此后,在溶酶体中的酸性环境下,M6P 的受体便与 M6P 分离,又重新返回到高尔基复合体反面,再去参与其他溶酶体酶的分拣及溶酶体的形成(图 8-13)。

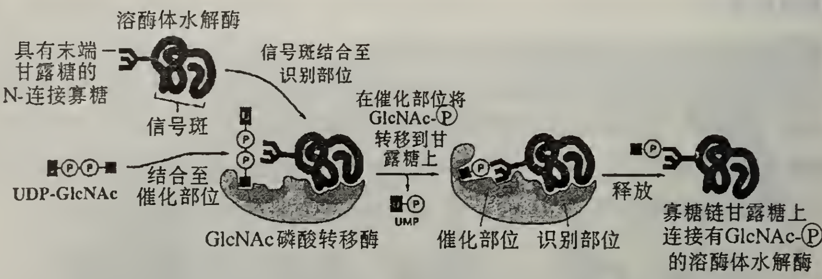


图 8－12　溶酶体水解酶的识别机制

在高尔基复合体中，靠 GlcNAc 磷酸转移酶来识别溶酶体水解酶。该转移酶具有一个识别部位和一个催化部位。识别部位可与溶酶体水解酶表面的信号斑结合，起到识别溶酶体水解酶的作用；催化部位可同时与寡糖链及 UDP-GlcNAc 结合，起将 GlcNAc-Ⓟ连接到甘露糖上的作用(自 Alberts　1994)

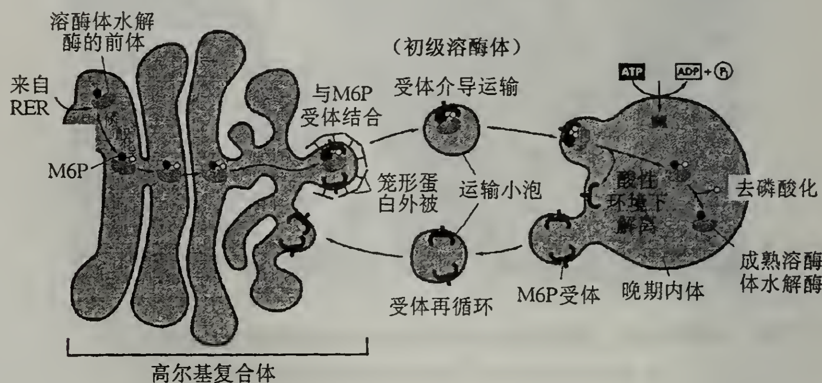


图 8－13　新合成溶酶体水解酶向溶酶体的运输图解（自 Alberts　1994)

在高尔基复合体上发生磷酸化时，磷酸转移酶是如何从众多来自糙面内质网的蛋白质中识别出溶酶体酶的呢？现已发现溶酶体酶分子中存在有识别信号，该信号是依赖于溶酶体酶的构象或三级结构形成的信号斑(signal patch)。多数溶酶体酶分子上具有多个 N- 连接的寡糖链，一旦磷酸转移酶识别了溶酶体酶的信号斑后，便可在每条寡糖链上同时进行磷酸化，形成多个 M6P。因此，含有多个 M6P 的溶酶体酶在与 M6P 的受体结合时，其亲和力很大，因而可保证溶酶体酶分拣的准确性。

溶酶体酶还常常需要加工，而加工常常发生在进入初级溶酶体之后，不同酶的加工方式也各不相同，如溶酶体酶前体物的去磷酸化等。

总之，溶酶体酶的合成和成熟过程经历了如下几个步骤：

部位	发生的变化
(1) 核糖体	合成前蛋白
(2) 内质网	输入内质网腔；切除信号肽；N- 键糖基化
(3) 高尔基体	修饰；形成 M6P 配体；同 M6P 受体结合；　末端糖基化
(4) 初级溶酶体	与 M6P 受体分离；前酶初步水解；去磷酸化；开始与其他小泡融合
(5) 次级溶酶体	水解酶成熟；催化；降解

上述溶酶体酶的合成和熟化步骤对各种溶酶体酶都具有普遍意义。

第二节 微 体

1954 年,J. Rhodin 在小鼠肾组织的电镜照片上发现了一类卵圆形小体,后来在许多物种中均观察到了这种类似的小体。利用密度梯度离心可把这种小体与溶酶体和线粒体分离开来, 由于小体较小, 学者们便将这类小体统称为微体(microbody)。此后,微体一词一直被用来专指含有氧化酶、过氧化物酶,或过氧化氢酶活性的细胞器。经研究发现, 微体普遍存在于动物体和植物体中。

微体是由一层单位膜包围的卵圆形或哑铃形小体, 直径约 0.2 ~ 1.5μm, 内部含有无定形的颗粒基质, 有时也含有晶格状内含物。微体为一类异质性细胞器,有的比较大, 形状也不规则,且常常成群分布在内质网膜的附近。在有的细胞中,微体紧靠线粒体或叶绿体。

微体与其他细胞器在形态上很容易区别开来, 惟独与溶酶体很相似, 它们在形态和沉降系数上非常相近,但在含有的酶类和性质等方面又有不同(表 8-2)。此外,微体与其他细胞器所不同的是, 微体为在一定条件下可以被诱导而进行增生的一种细胞器。

表 8－2 微体与初级溶酶体的比较

特 征	溶 酶 体	微 体
形态大小	多呈球形, 直径 0.2 ~ 0.5μm, 无酶晶体	球形, 直径 0.15 ~ 0.25μm, 有酶晶体
酶的种类	酸性水解酶	氧化酶类
pH 值	~5	~7
需氧与否	不需要	需要
功 能	细胞内消化	主要与糖异生有关
发 生	酶在 RER 上合成,经高尔基复合体出芽形成	酶在细胞质基质中合成,经分裂和组装形成
标志酶	酸性水解酶	过氧化氢酶

在动物细胞和植物细胞中普遍存在有两种微体, 即过氧化物酶体 (peroxisome) 和乙醛酸循环体(glyoxysome)。虽然从物理性质和形态特征上来看, 过氧化物酶体和乙醛酸循环体非常相似,用目前的技术还不易将它们分开,也很难从超微结构上进行鉴定;但其在生化性质(标志酶)与生理功能上差异则很大,而且通过对乙醛酸循环体内所发生的生化反应进行详细研究, 提出了反应的机制, 从而表明二者所参与的反应并不相同。由此可见,二者虽同属于微体,但又各不相同,微体应包括过氧化物酶体和乙醛酸循环体。

一、过氧化物酶体

1969 年, de Duve 发现在大鼠肝细胞中的微体含有许多氧化酶, 后来在动物和植物的许多组织中都发现了这种细胞器,故定名为过氧化物酶体(peroxisome)。它一般存在于动物细胞和高等植物的叶肉细胞中(图 8－14)。

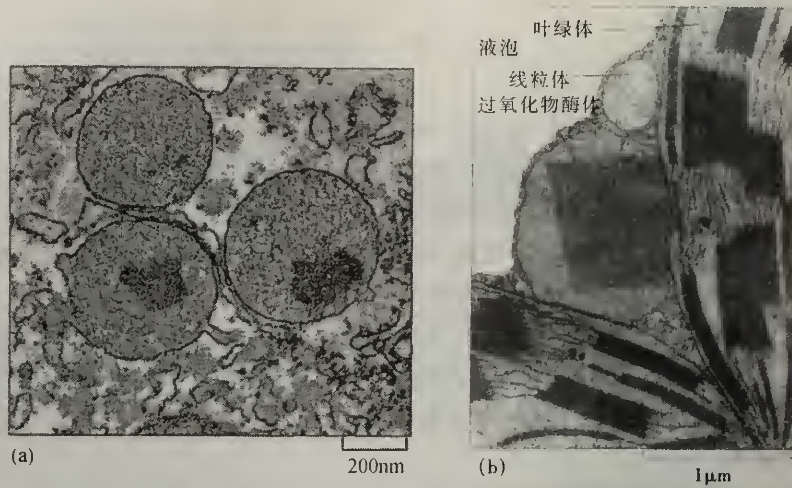


图 8-14 过氧化物酶体的电镜图

(a)大鼠肝细胞中的过氧化物酶体，电子致密核心为尿酸氧化酶；

(b)植物叶肉细胞中具有晶格状核心的过氧化物酶体，常紧邻叶绿体

（一）形态大小与生化特性

过氧化物酶体的形态大小因生物体和细胞类型不同而有差异，一般有圆球形、椭圆形、卵圆形或哑铃形，有的甚至呈小管状。其存在部位常常紧靠叶绿体。在增塑剂(plasticizers)的诱导下，大鼠肝中的过氧化物酶体可增加 5～9 倍；有些种类的酵母菌，当生长在甲醇链烷或脂肪酸中时，其过氧化物酶体也可被诱导而数量增加。

微体中的氧化酶可把氧原子传递给氢分子，形成过氧化氢，随后过氧化氢酶又把对细胞有毒害作用的过氧化氢分解为水与氧，同时各种底物，如苯、甲酸、乙醇等，被氧化($H_2O_2 + R'H_2 \rightarrow R' + 2H_2O$)，去掉了底物的氢原子。肝、肾即是通过此途径对毒性分子解毒。氧化酶均含有与蛋白质结合的黄素辅基，故称为黄素氧化酶。各种黄素氧化酶均以其所作用的底物来命名，如作用于尿酸的尿酸氧化酶，作用于乙醇酸的乙醇酸氧化酶。de Duve 把具有黄素氧化酶－过氧化氢酶途径的微体称为过氧化物酶体。其反应途径如下：

$$RH_2 + O_2 \xrightarrow{\text{黄素氧化酶}} R + H_2O_2 \qquad H_2O_2 \xrightarrow{\text{过氧化氢酶}} H_2O + 1/2O_2$$

过氧化物酶体膜的通透性较大，可允许蔗糖、乳酸和氨基酸等一些小分子自由穿过，此特点与线粒体外膜相似。Mannaerts 等认为，该通透性与一种 22kDa 的膜整合蛋白有关，但仍有待于进一步证实。某种过氧化物酶扩散因子如 clofibrate 可大幅度改变膜的通透性，甚至能允许一些大分子穿膜进入到胞质中。总之，此通透性保证了酶体所需反应底物的自由运进和酶体代谢产物的自由运出。

（二）化学组成

过氧化物酶体的膜由脂类和蛋白质构成。脂类主要为磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺

等;蛋白质主要是一些结构蛋白和酶,包括22kDa蛋白、68kDa蛋白、70kDa蛋白、酰基CoA合成酶、NADH－细胞色素b5还原酶和二羟丙酮磷酸(DHAP)酰基转移酶等(表8－3)。

表8－3 过氧化物酶体膜的化学组成

组　分	定　位
酰基-CoA合成酶	膜外侧
细胞色素b5	膜外侧
NADH-细胞色素b5还原酶	膜外侧
酰基-CoA还原酶	膜外侧
DHAP-酰基转移酶	膜内侧
22kDa蛋白	膜整合蛋白
68kDa蛋白	膜整合蛋白
70kDa蛋白	膜整合蛋白
磷脂酰胆碱	主要磷脂组分(最多)
磷脂酰乙醇胺	主要磷脂组分

过氧化物酶体含有过氧化氢酶类、氧化酶类、酰基转移酶类、脱氢酶类等,包括过氧化氢酶、尿酸氧化酶、D－氨基酸氧化酶、β－羟酸氧化酶、NADH－乙醛酸还原酶和NADP－异柠檬酸脱氢酶,最适pH值为7.0。其特异性标志为过氧化氢酶。当尿酸氧化酶大量存在时,在细胞中央往往形成一个晶格状类核,为其在电镜下的特异性识别标志。用适当的细胞化学法也可显示出来(图8－15)。此外,它还含有乙醇酸氧化酶,这种酶可催化乙醇酸氧化,形成乙醛酸和过氧化氢:

$$\underset{(\text{乙醇酸})}{\begin{matrix}COOH\\ \downarrow\\ CH_2OH\end{matrix}} + O_2 \xrightarrow{\text{乙醇酸氧化酶}} \underset{(\text{乙醛酸})}{\begin{matrix}COOH\\ \downarrow\\ CHO\end{matrix}} + H_2O_2$$

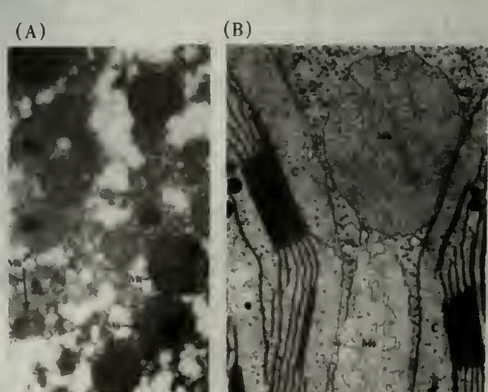


图8－15 动植物细胞中的过氧化物酶体电镜图

(A)大鼠肝细胞中的过氧化物酶体(Mb),含有典型的亚晶体芯。×20 250(自Federman. M.);
(B)梯牧草(*Phleum pratense*)叶肉细胞中的过氧化物酶体,内含有细丝状的物质。
植物细胞中的过氧化物酶体在位置上往往与叶绿体和线粒体近邻。
×66 000(自Newcoomb, E. H. and Frederick, S. E.)

引入体内的酒即是通过此途径被氧化。

过氧化氢被过氧化氢酶分解，乙醛酸则通过不同的途径被处理。过氧化物酶体膜的透性较高，酶的作用底物可穿膜而入。

（三）功能

过氧化物酶体是细胞内糖、脂和氮的重要代谢部位（图 8－16）。近年来，发现该酶体还参与了长链脂肪酸的降解，乙醚磷脂和胆汁酸的生物合成，胆固醇、多胺、草酸盐、植烷酸、二羧酸以及几种药物等的代谢转换。同胆固醇的代谢和甾类化合物的合成有关的细胞，如肝、肾、卵巢和睾丸间质，其过氧化物酶体特别丰富。此外还发现，服用降低血胆固醇的药物可引起肝细胞中的过氧化物酶体大量增加。在植物细胞中，过氧化物酶体是乙醇酸氧化的场所。乙醇酸氧化的结果是摄取氧气并释放二氧化碳，此过程又叫做光呼吸(photo－respiration)，是在光照下与叶绿体联合共同完成的。

二、乙醛酸循环体

1967 年，R. W. Breidenbach 和 H. Beevers 发现，在有些植物组织的微体中除含有过氧化物酶体的有关酶外，还含有同乙醛酸循环有关的酶，他们把这种微体称为乙醛酸循环体(glyoxysome)（图 8－17）。它仅出现在植物细胞中，在动物细胞中至今仍未发现其存在。在植物中，除存在于种子脂肪贮藏组织和叶子外，还存在于根、块茎和花瓣等一些非绿色组织中。

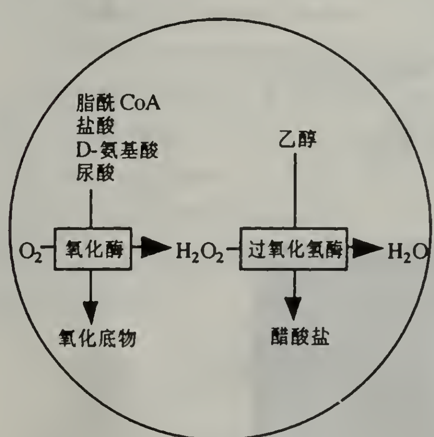


图 8－16　过氧化物酶体的代谢反应图解

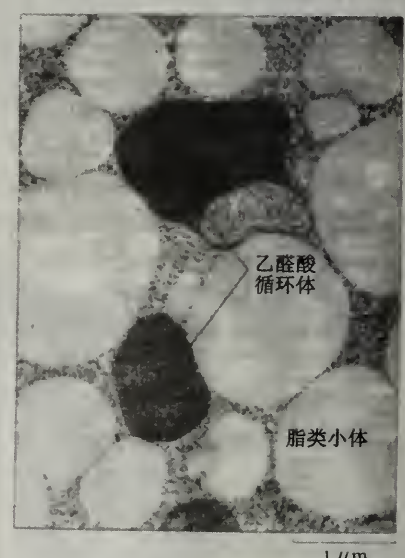


图 8－17　番茄种子中一种脂肪贮存细胞的乙醛酸循环体

乙醛酸循环体常与脂肪小体相邻（自 Frederick, S. et al. 1994）

（一）形态大小与生化特性

乙醛酸循环体在形态大小上与过氧化物酶体极为相似，在电子显微镜下，乙醛酸

循环体膜的外表面颗粒较少，而内表面则有很多颗粒，这些颗粒很可能是一些 ATPase 颗粒，对 ATP 具有运输功能。乙醛酸循环体不仅含有乙醛酸旁路的酶——异柠檬酸裂合酶和苹果酸合成酶，而且还含有三羧酸循环的几种主要酶。最近的研究表明，在乙醛酸循环体的膜中还存在有细胞色素 c 还原酶、铁－氰化物还原酶、细胞色素 b5、细胞色素 P450、抗坏血酸自由基还原酶和抗坏血酸过氧化物酶等电子传递体，以及催化酶和苹果酸合成的抑制剂。

三羧酸循环和乙醛酸循环都是利用同一反应以乙酰 CoA 和草酰乙酸为原料来合成异柠檬酸。但此后的反应则不同。在三羧酸循环中，异柠檬酸连续脱羧产生了琥珀酸和两个分子的 CO_2 。在乙醛酸循环中，异柠檬酸转换成琥珀酸和乙醛酸。因此，二碳的乙醛酸同另一个乙酰 CoA 缩合，形成四碳的二羧酸－苹果酸。四碳化合物转换成琥珀酸后，即被转移到线粒体中，再被转化成草酰乙酸。然后，草酰乙酸用于糖异生，合成碳水化合物。

在乙醛酸循环体中形成的琥珀酸进入线粒体后，在线粒体中形成草酰乙酸，草酰乙酸可作为磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)的直接前体物。PEP 可通过糖酵解的逆反应转化成碳水化合物。因此，含有乙醛酸循环体的组织可把二碳化合物(如乙酸)转化成碳水化合物。在种子的脂肪贮存细胞中，脂肪酸降解产生乙酸。

(二)功能

含油量高的高等植物种子，如蓖麻籽、棉花籽、花生、大豆和油菜籽等，其含油量和脂肪量很高(约占种子总重量的 40% ~70%)，且主要贮存在子叶与胚乳中。

这些富含脂肪的种子开始萌发时，很快便诱导产生许多乙醛酸循环体，与圆球体紧密连接，并于几天之内达到高峰。乙醛酸循环体以贮存的脂肪为能源，将脂肪转化成糖，为种子萌发和幼苗生长提供能量。糖异生反应产生了供细胞物质的生物合成所需要的糖。由此可见，乙醛酸循环体的主要功能是由脂肪通过乙酰 CoA 和乙醛酸循环，合成碳水化合物和其他细胞成分。糖异生的整个反应包括 β－氧化和乙醛酸循环 (glyoxylate cycle)两个主要过程，涉及了乙醛酸循环体、圆球体和线粒体三个细胞器(图 8－18)。

最近的研究表明，在基质中进行的氧化还原反应可将电子传递到乙醛酸循环体中，经过一定的反应机制起动了乙醛酸循环，而经乙醛酸循环所合成的琥珀酸随后再被转移到线粒体中。

过氧化物酶体和乙醛酸循环体所含有的酶类不同，但二者均能使一些非碳水化合物的物质转化为碳水化合物。

三、 微体的发生

细胞生物学和生物化学的研究均表明，微体的膜来源于内质网(图 8－19)。所含有的酶类均是由细胞核基因编码、在细胞质基质中合成的，且不进行糖基化。

在所含酶类中，研究较清楚的是过氧化氢酶，它是一个含血红素的四聚体蛋白质，其单体是在细胞质基质中合成的，在特定的信号序列的指导下进入过氧化物酶体，此信号序列在完成使命后不会被切除。最近发现，至少有部分信号序列与过氧化氢酶单体分子 C 端的 3 个氨基酸(Ser-Lys-Leu)序列有关。此序列称为(微体)输入信号，实验

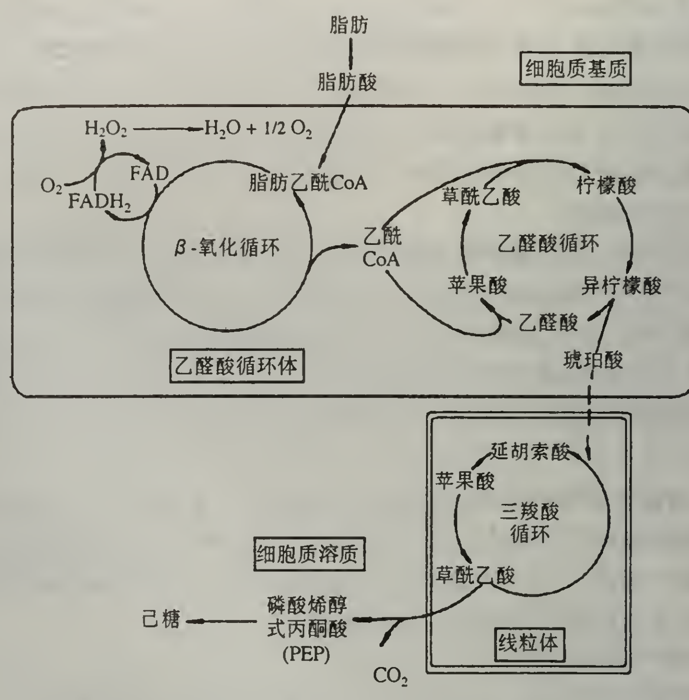


图 8-18　蓖麻籽胚乳细胞中乙醛循环体和线粒体在代谢途径中相互配合图解

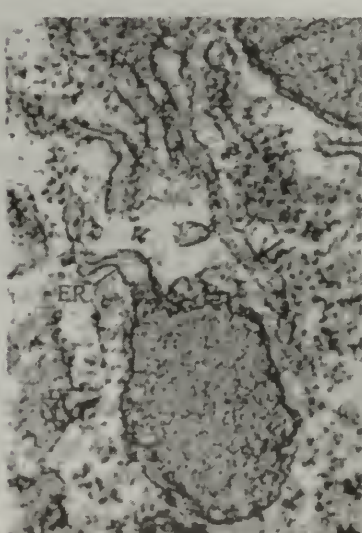


图 8-19　大鼠肝细胞局部电镜图
示过氧化物酶体与内质网的连续性

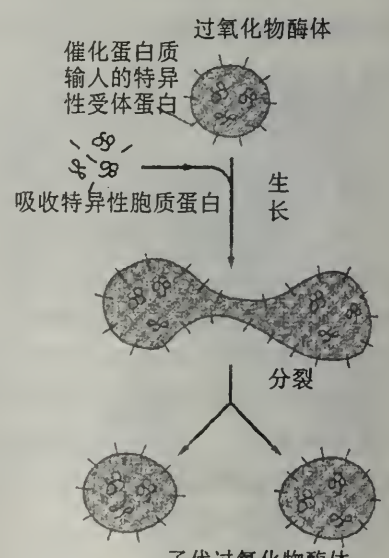


图 8-20　过氧化物酶体的生长和分裂方式图解

表明，如果将此序列连接到某一种非微体蛋白上，此种蛋白质也能进入到过氧化物酶体中。据推测，在过氧化物酶体膜的胞质面上存在有识别信号序列的受体，在过氧化物酶体腔中单体与血红素结合并形成四聚体。目前认为，形成过氧化物酶体的所有膜蛋白及膜脂也都是通过细胞质基质转运而来，膜脂可能是在内质网上合成后通过磷脂交换蛋白来完成其转运的。

已有证据表明，微体的发生过程与线粒体和叶绿体类似，即由已有的微体经过分裂形成新的子代微体，经进一步装配后形成成熟微体(图 8-20)。但微体不同于线粒

体和叶绿体的是不含有DNA。

大家知道,线粒体是细胞内进行氧化作用的一种重要细胞器。那么,为什么细胞内还要存在具有氧化作用的过氧化物酶体呢?有人推测,在进化过程中,当真核细胞进入需氧生活阶段时,便产生了过氧化物酶体这种细胞器。后来,随着线粒体的出现,线粒体便开始占据进行氧化作用的主导地位,过氧化物酶体也就开始逐渐退化,其所含有酶的种类和数量减少,甚至在某些细胞类型中完全消失。但由于其仍具有一定功能,故而在许多细胞类型中被保留下来。

提　　要

溶酶体为单层膜包围的含有多种酸性水解酶的异质性囊泡状细胞器。直径为0.4微米到数微米不等。溶酶体几乎存在于所有的动物细胞中;植物细胞中也有类似结构,如圆球体、糊粉粒及中央液泡等;原核生物中也有类似结构(如质周隙)。

溶酶体中的酸性水解酶除组织蛋白酶B1外均为糖蛋白,其糖基有甘露糖、半乳糖、葡萄糖和岩藻糖,且在其寡糖链中的甘露糖残基上发生了磷酸化。

溶酶体中所含有的水解酶种类繁多,具有分解各种生物大分子的酶,其主要功能是进行细胞内消化作用。新形成的溶酶体称为初级溶酶体,当其融合入消化物后即成为次级溶酶体。根据消化物的来源不同,次级溶酶体可分为自噬溶酶体和异噬溶酶体;据对消化物的消化程度,自噬溶酶体又可分为多泡小体、髓样小体和残余小体等。在某种刺激或生理条件下,溶酶体膜破裂,将导致整个细胞被消化。溶酶体除具有细胞内消化的功能外,在清除衰老细胞器、发育变化、受精、防御和植物种子萌发等生理活动中也发挥着重要作用。

溶酶体和分泌颗粒一样,首先在内质网上合成蛋白质,被转到高尔基复合体后由单个潴泡以出芽的方式形成。溶酶体酶在内质网上合成和糖基化修饰后,被转移至高尔基复合体,在顺面的潴泡中寡糖链上的甘露糖残基发生磷酸化形成M6P,在反面潴泡和管网膜上存在有M6P的受体,因而把溶酶体酶从其他蛋白质中分拣出来,最后以出芽的方式被包装成衣被小泡,直接转运到溶酶体中。溶酶体酶前体物在溶酶体中去磷酸化,而成为溶酶体酶。

微体是另一类含有专一性酶的异质性细胞器,常常成群分布在内质网膜的附近,在有的细胞中则紧靠线粒体或叶绿体。因所含有的酶类不同,又分为过氧化物酶体和乙醛酸循环体。

过氧化物酶体在真核细胞中普遍存在,它含有同黄素有关的氧化酶和过氧化氢酶,可氧化尿酸和乙醇,同时又可分解在氧化作用中产生的过氧化物副产物,避免过氧化物对细胞的毒害作用。在过氧化物酶体中,当尿酸氧化酶大量存在时,在细胞中央往往形成一个晶格状类核,为其在电镜下的特异性识别标志。过氧化物酶体的特异性标志为过氧化氢酶。

过氧化物酶体在动物细胞中的功能还不够清楚,但很可能同胆固醇的代谢和甾类化合物的合成有关。而在植物细胞中,过氧化物酶体是乙醇酸氧化(摄取 O_2 并释放 CO_2)的场所,与光呼吸有关。

乙醛酸循环体仅出现在植物细胞中,尤其是在蓖麻籽等一些含油量高的高等植物种子的子叶与胚乳中特别丰富。它含有与乙醛酸循环有关的酶类,也具有糖异生的

作用，可使贮存的脂肪转变为糖。

乙醛酸循环体的主要功能是，通过乙酰 CoA 和乙醛酸循环，利用贮存的脂肪，来合成碳水化合物和其他细胞成分。

关于微体的来源，一般认为微体的膜可能来源于内质网。所含有的酶类均是由细胞核基因编码、在细胞质基质中合成的。微体的发生过程与线粒体和叶绿体类似，数量的增加可通过已有的微体分裂而来。

复习思考题

1. 关于溶酶体的来源与增生，请谈谈你的看法。
2. 溶酶体一旦发生异常，会引起什么样的疾病？各对机体又有什么影响？
3. 在细胞中溶酶体的形成路线是怎样的？其分子机制又如何？
4. 何谓膜的再循环？请总结出膜与膜受体在细胞内的再循环过程及其同溶酶体的关系。
5. 微体有哪些共同特点？与溶酶体有何异同点？
6. 既然线粒体是进行细胞内氧化作用的重要细胞器，那么过氧化物酶体的存在又有什么意义呢？

主要参考文献

汪堃仁，薛绍白，柳惠图主编，1998. 细胞生物学，北京：北京师范大学出版社，149～164

翟中和等，1995. 细胞生物学．北京：高等教育出版社，139～147

郑国锠，1992. 细胞生物学（第二版）. 北京：高等教育出版社，179～199

Alberts B. *et al.*, 1994. Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing, Inc., New York & London 551～617

Avers, C. J. 1986. Molecular Cell Biology. Addison-Wesley Publishing Company Inc. 227～303

Bryan Winchester, 1992. The Lysosome: Structure, Organization and Function. from "Fundamentals of Medical Cell Biology", Vol. 4, JAI Press Inc. 305～361

Colin Masters and Denis Crane, 1992. The peroxisome: Structure and Function. from "Fundamentals of Medical Cell Biology", Vol. 4, JAI Press Inc. 363～396

De Duve, C., 1963. Lysosome. Scientific American, 5

De Duve, C., 1975. Exploring Cells with A Centrifuge, Science, 189: 186

De Robertis & De Robertis, 1980. Cell and Molecular Biology. 501～518. Saunder College, Philadelphia. 206～225

Dean R., T., 1977. Lysosome, Edward Arnold.

Giese, A. C., 1984. 细胞生理学，北京：科学出版社，128～133

Karp, G., 1984. Cell Biology, 2nd ed., McGraw－Hill Book Company, New York. 252～265

第九章

细胞骨架与细胞运动

真核细胞可分为细胞核和细胞质两个部分。在光学显微镜下,细胞质除了能看到的一些体积较大的细胞器(如线粒体、叶绿体、高尔基复合体和中心粒等)外,其余部分看不到什么定形的结构。为此,便把细胞质中的无定形结构的部分称为基质(ground substance; matrix)。因此,以前普遍认为,细胞器是悬浮在半透明、匀质、无结构的基质中的。但是,细胞各种形状的保持和很多复杂的运动现象以及各种细胞器的精密定位及其迁移,都启发学者们考虑到细胞的结构可能不会如此简单,肯定有一种类似于骨架的某种结构在起作用。

1928 年,Koltzoff 就认为,"在原生质中存在着一种具有一定结构的纤维状成分,每一个细胞就是一个由液体成分和硬性骨架组成的体系。细胞依靠这些骨架纤维保持着一定的外形。由于骨架纤维很细,或是其折射系数与周围胶体溶液接近,因而不易看到"。虽然 Koltzoff 提出了细胞骨架(cytoskeleton)的原始概念,但由于当时技术条件的限制,在光镜下没能真正看到这种结构,因而这一概念在当时只是一种设想。

电镜的发明和应用为细胞超微结构的研究打开了局面,也使我们有可能直接观察到细胞骨架结构。但真正观察到细胞骨架的存在,则是在 20 世纪的 60 年代。在此之前,制做电镜标本时均使用锇酸和高锰酸钾作固定剂,且是在 0℃ 下进行,这些条件均不利于细胞骨架的保存,所以看不到这种结构。直到 1963 年,Slauterback 改用戊二醛(glutaraldehyde)作固定剂,才首次在水螅刺细胞中观察到了微管。随后学者们发现,细胞骨架是细胞质中由几种蛋白性纤维状成分所形成的骨架样结构,在真核细胞中广泛存在(图 9-1)。

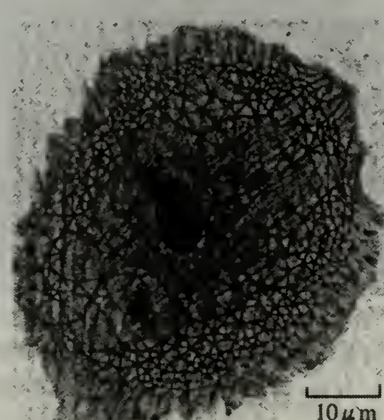


图 9-1 一个培养细胞的细胞骨架

培养细胞经固定后用考马斯亮蓝染色,便可显示出遍布于整个细胞内的各种蛋白质性的丝状结构(自 Alberts 1994)

随着对细胞骨架研究的逐步深入,使我们对它的认识也越来越深刻。它除在保持细胞外形、维持细胞内部结构的有序性和构成某种细胞器外,还在细胞的物质运输、能量与信息传递、细胞的各种运动、基因表达、以及细胞的分裂和分化中起着必不可少的重要作用。目前对细胞骨架的研究已成为细胞生物学中一个重要的发展领域。

自从发现了细胞骨架之后,学者们便用"cytosol"一词代替了"ground substance"或"cytoplasmic matrix"一词,即把细胞质经低速离心除去了细胞骨架和各种膜性细胞器以后的部分称为 cytosol。后来发现,细胞质具有溶胶态和凝胶态两种胶态,这两种胶态的转变与细胞骨架的变化有关,因此便把"cytosol"一词重新定义为:细胞质中除了膜

细胞器以外的主要成分称为 cytosol（细胞质溶质；胞质溶胶）。由于 cytosol 不是一般化学意义上的溶胶，故本书采用"细胞质溶质"的定名。

从广义上讲，细胞骨架应包括细胞质骨架、细胞核骨架、细胞膜骨架和细胞外基质四个部分，细胞骨架各级成分可概括如下：

- 细胞骨架
  - 细胞外基质
    - 胶原
    - 非胶原糖蛋白
    - 氨基聚糖和蛋白聚糖
    - 弹性蛋白
  - 细胞膜骨架
  - 细胞质骨架
    - 纤丝
      - 微丝
      - 中间丝
      - 粗丝
    - 微管
  - 细胞核骨架
    - 核基质
    - 核纤层 - 核孔复合体体系
    - 染色体骨架



图 9－2　在成纤维细胞中微管的免疫荧光图像
用微管蛋白抗体染色可显示出微管由核向外呈辐射状分布，在培养的成纤维细胞中构成了复杂的网络

从狭义上讲，细胞骨架即为细胞质骨架，包括微管（microtubule）、纤丝（filament）两大类纤维状成分。纤丝又可分为微丝（microfilament）、中间丝（intermediate filament）和粗丝（thick filament）三类。尽管利用常规方法，在普通光镜下看不到细胞骨架的成分，但若利用免疫荧光方法仍然可显示出微管和微丝在细胞中的分布情况（图 9－2）。

第一节　微　　管

一、微管的形态结构

微管（microtubule，MT）是细胞质中由微管蛋白组装成的一种细长而具有一定刚性的圆管状结构。广泛存在于各种真核细胞中，且在细胞内多呈网状或束状分布，与维持细胞形态、细胞运动及细胞分裂有关。微管为内径约 15nm、外径约 24 ~ 26nm、壁厚约 5nm 的中空结构，在各种细胞中的形态和结构基本相同。微管的长度不等，有的可达数微米。

微管是存在于真核细胞中的结构，但在几种螺旋体菌中亦发现有微管。细菌微管[在]形态、长短和粗细方面均类似于真核细胞的微管，而且也由微管蛋白组成。用从真[核]生物制取的抗微管蛋白血清进行测定的结果表明，螺旋体微管与真核细胞微管蛋白[有]免疫交叉反应，因而二者有相关性。

[二]、微管的化学组成

[（]一）微管蛋白

构成微管的主要成分为微管蛋白（tubulin），约占微管总蛋白质含量的 80% ~ [9]5%。微管蛋白分为两种，即 α 微管蛋白和 β 微管蛋白，二者组成异二聚体。异二聚体[是]构成微管的基本亚单位，若干异二聚体首尾相接，形成了原丝（图 9－3）。微管是由[1]3 根原丝（protofilament）排列而成，在大小上也均匀一致。在细胞质中，微管可装配成[单]管、二联管（纤毛和鞭毛）和三联管（中心粒和基体）。

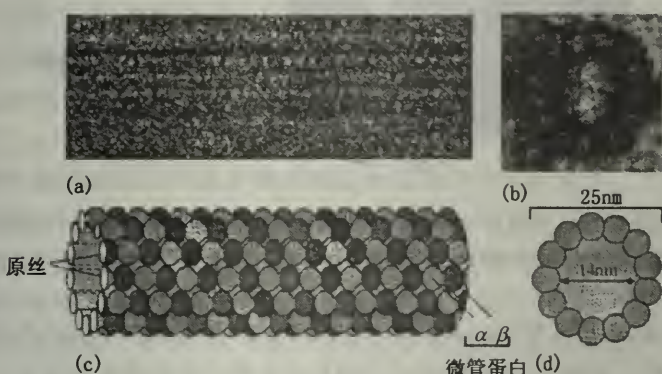


图 9－3　微管的电镜图像与模式图解
(a)为纵行微管的电镜图像；(b)为微管横切面的电镜图像；
(c)为 (a)的模式图解；(d)为 (b)的模式图解

α 微管蛋白与 β 微管蛋白在化学性质上极为相似。二者的相对分子质量均为[5]0kDa，所含氨基酸数分别为 450 个和 445 个。氨基酸序列分析表明，二者有 42% 的顺[序]相同，第 142 ~ 148 残基均为一甘氨酸群，此处为磷酸基或 GTP 的结合部位；而在—COOH 端均为一肌钙蛋白 T 顺序。各种生物的微管蛋白几乎完全相同，如 α 微管蛋白在 411 个氨基酸残基中仅有 2 个有种间差异。这说明，α 和 β 微管蛋白具有同一个基因祖先，而且在进化过程中极为保守。

微管蛋白异二聚体上含有鸟嘌呤核苷酸的 2 个结合位点和二价阳离子的结合位点，同时 β 微管蛋白肽链中的第 201 位的半胱氨酸为秋水仙素分子的结合部位。另外异二聚体上还含有一个长春花碱的结合位点。

（二）微管结合蛋白

在细胞内，微管除含有微管蛋白外，还含有一些同微管相结合的辅助蛋白，这些蛋白质称为微管结合蛋白（microtubule-associated protein, MAP）。MAP 有若干种，在高等生物中发现有 2 种高相对分子质量（*M*r）的 MAP，即 MAP-1（345kDa）和 MAP-2（271～286kDa）；还有 2 种低分子量的 MAP（28kDa，30kDa）。此外，还有一类与微管结合的蛋白质称为 tau 蛋白。tau 蛋白有 5 种，大小在 55～77kDa 之间。

MAP 和 tau 蛋白不是构成微管壁的基本构件，而是在微管蛋白装配成微管之后，结合在微管表面的辅助蛋白。MAP-2 分子呈"L"形，以其短臂结合到微管表面上，短臂为微管促进装配区（assembly promoting domain）；长臂则以垂直方向从微管表面伸出。当微管结合有 MAP 时，在电镜下可显示出其表面的短纤丝（图 9－4）。

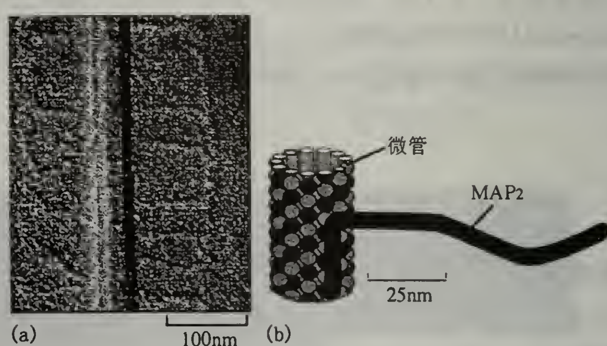


图 9－4　微管结合蛋白的电镜图像及模式图解（自 Alberts　1994）

（a）为脊椎动物脑的微管结合蛋白与微管结合的电镜图片；（b）为 MAP-2 与微管结合的模式图解

各种微管均由 α，β 微管蛋白异二聚体组装而成，其结构和功能的差异可能主要取决于 MAP 的不同。MAP 的功能包括：① MAP 具有调节微管装配的作用。MAP-2 分子上有一些磷酸化部位，当 cAMP 依赖性蛋白质激酶（cAMP-dependent protein kinase）以其调节亚基同 MAP-2 长臂结合时，可使 MAP-2 磷酸化。磷酸化的 MAP-2 可抑制微管装配；而 MAP-1 和 tau 蛋白的作用是控制微管的延长。② MAP 通过横向连接相邻微管，使微管按一定的方式排列，并对已装配好的微管的空间结构具有稳定作用，从而使微管能抵御某些化学物质（如秋水仙素）和物理因子（如冷和流体静高压）的影响而不发生解聚。如果去掉 MAP，微管则很易解聚。因而，MAP 在细胞质中可调节微管蛋白亚单位库与微管蛋白聚合结构之间的平衡，并对微管具有稳定作用。③ MAP-1 和 tau 蛋白还具有调节 MAP-2 和 tau 蛋白同微管蛋白及肌动蛋白间的相互作用；此外，MAP 还可在微管同其他微管、细胞器或膜结构的相互结合中发挥作用。有的细胞，在某些特化的区域中微管结构特别稳定，这与 MAP 的分布有关。例如神经细胞轴突中 tau 蛋白特别丰富，有利于保持微管束的存在。而树突和细胞本体中则 MAP-2 集中，轴突中无 MAP-2。神经细胞分化过程中，轴突和树突的发生与 MAP 密切相关，如果抑制 tau 蛋白的合成，即会抑制轴突的发生，而树突的发生不受影响。反之，如果使非神经细胞表达 tau 蛋白，细胞也会长出轴突，并和神经细胞一样，微管成束排列，且＋端朝向突起的远端。④还有一种微管附属结构，那就是纤毛和鞭毛中的动力蛋白臂（dynein arms），纤毛

动力蛋白由 9 条多肽链构成，为一个相对分子质量约 2000kDa 的蛋白集合体，具有 ATP 酶活性，是细胞内的马达蛋白(motor protein)，可为纤毛与鞭毛的运动提供动力。

三、微管的特性

根据对细胞内的观察和细胞外的实验证明，微管具有如下的特性：

1. 自我装配

自我装配是许多细胞器所具有的特性之一。在合适的条件下，微管也能进行自我装配，其装配要受到微管的浓度、pH 值和温度的影响。α 和 β 微管蛋白，彼此之间具有很强的亲和力，故常以二聚体的形式存在，二聚体的相对分子质量约为 110～120kDa。在体外，只要二聚体达到一定的浓度，在适当的缓冲液中，异二聚体即聚合成微管。例如脑微管蛋白在 pH6.9、4℃ 的条件下，也可自我组装成微管。通常，在 37℃ 的体温下，二聚体可聚合成微管；而在 0℃ 下，微管便解聚为二聚体，因此细胞在 0℃ 下，其微管不复存在。

微管的装配还需要有 GTP 提供能量，而且需要 Mg^{2+} 的存在。每一异二聚体上均有 GTP 和 Mg^{2+} 结合位点，可同 1 个 GTP 和 1 个 Mg^{2+} 紧密结合。α 和 β 微管蛋白同 GTP 结合后而被激活，引起微管蛋白分子的构象发生改变，从而使异二聚体结合成微管，而 GTP 则分解为 GDP 磷酸。因此，当微管两端的微管蛋白具有 GTP 帽时，微管继续组装；而具有 GDP 帽时，微管则趋向于解聚。

此外，Ca^{2+} 的浓度变化也能影响微管的装配。内质网具有贮存 Ca^{2+} 的功能。内质网小泡释放或回收 Ca^{2+} 可改变局部细胞质基质中的 Ca^{2+} 浓度，当释放 Ca^{2+} 时，局部细胞质基质中的 Ca^{2+} 浓度提高，可引起微管解聚；反之，小泡回收 Ca^{2+} 后，则可促进微管装配。因而，细胞质基质中游离 Ca^{2+} 的浓度变化具有调节微管装配的作用。

微管的装配具有一定的程序。所有的装配方式均为：在开始聚合时，α 和 β 微管蛋白形成微管蛋白异二聚体；异二聚体先彼此首尾相接，形成双层核心环、螺旋形或多层螺旋形(似弹簧)，环经过侧面二聚体的添加而扩展成螺旋带；随后，二聚体平行于长轴重复排列形成原丝，多条原丝并列而成片状；当螺旋带加宽至 13 根原丝时，即进一步卷曲成为一段短管，在短管的一端继续添加二聚体，从而使微管延长（图 9-5）。在一定条件下，微管的一端发生装配，使微管不断延长，而在另一端发生解聚而使微管缩短，其装配方式似踏车运动(tread milling)(图 9-6)。

微管在体内的装配与解聚在时空上高度有序。微管与微管蛋白单体处于一种相对平衡的状态。但在有些细胞中也存在有一些永久性的微管结构，如纤毛和鞭毛等。

2. 微管组织中心

在正常生理状态下，微管的装配总是先由一定区域开始的，该区域即称为微管组织中心（microtubule organizing center，MTOC），当把培养的动物细胞放入含有秋水酰胺的培养液中处理 1 小时后，再把细胞放入不含秋水酰胺的培养液中，隔不同时间用荧光标记的微管蛋白抗体对取出的细胞进行染色，发现微管首先以星光的形式从中心体处开始出现，然后向四周延伸（图 9－7）。在所有的动物细胞中，中心体(centrosome)是主要的微管组织中心，但并非所有的微管组织中心都有中心体。如在小

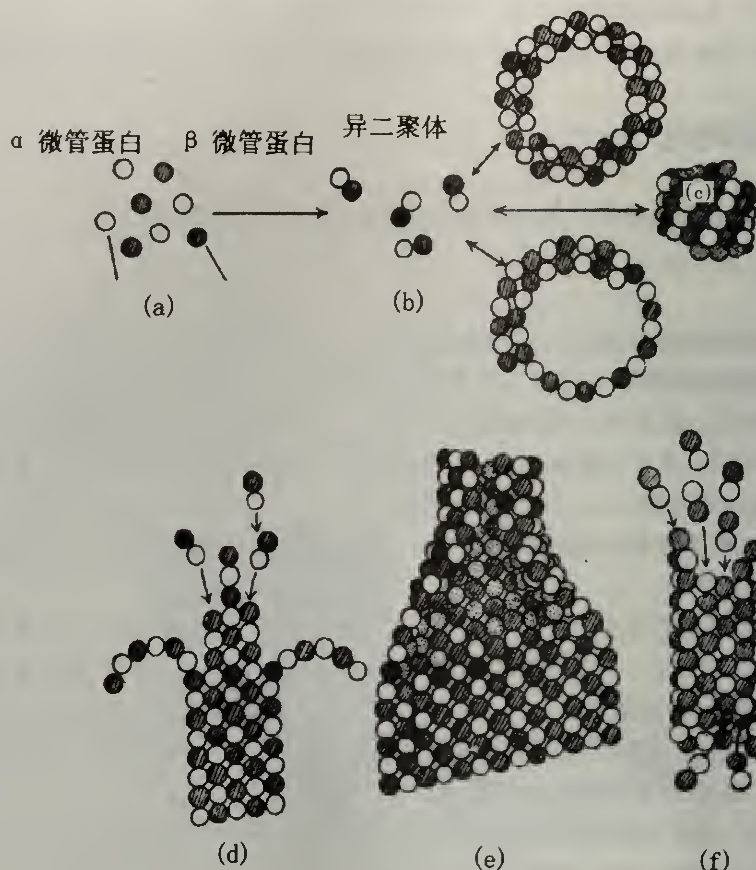


图 9－5　微管的体外装配过程图解

(a)由微管蛋白组装成异二聚体；(b) 足够浓度的异二聚体开始组装成双环或单环的中间结构形式；(c) 中间结构形式展开以形成原丝，多股原丝并列成片；(d) 原丝达到 13 根后则进一步卷曲成管状微管；(e)～(f) 以此短管为基础便可在正端逐渐添加异二聚体，使微管不断延长

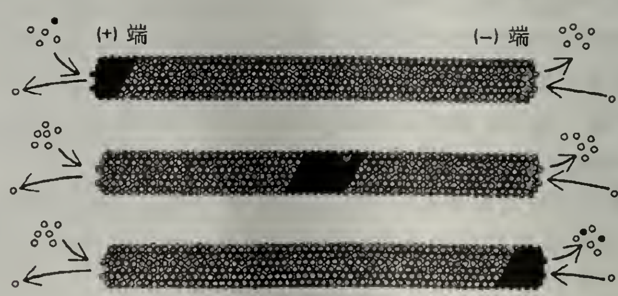


图 9－6　微管的踏车运动式装配图解

鼠卵母细胞的纺锤体中，根本鉴别不出中心体的存在，尽管在发育早期的胚胎中仍会出现中心体。此外，高等植物细胞中没有中心体，但在其有丝分裂时，仍可形成纺锤体，其微管的末端终止却在一个电子密度较低的特定区域中。

最新的研究结果表明，真正起微管组织作用的很可能是位于中心粒周围的一些蛋白质性的成分或与之相当的物质(见下文)。

3. 极性

α 和 β 异二聚体均是按一定的方向排列成微管的，从而使所有的微管均具有固定的极性，即微管的两端在结构上是不同的。在向微管样品中加入动力蛋白时，动力蛋白也均是按一定的方向结合到每条微管上，说明微管在结构上具有一定的极性。微管的极性由本身的分子结构来决定，β 微管蛋白所处的一端为正（+）端，而 α 微管蛋白所处的一端为负（-）端。微管的这种结构极性对于研究细胞运动和染色体移动的机制具有重要的指导性价值。另外，微管的生长也具有极性。经研究发现，微管的生长是通过向其远端（远离 MTOC 的一端）不断添加微管蛋白异二聚体来实现的。通常，起始端又称为尾端（-），生长端称为头端（+）。微管的聚合与解聚具有头-尾极性，微管蛋白异二聚体在头端的添加和拆卸速度约为尾端的 2 倍。微管蛋白的添加和释放主要发生在“+”极，微管的延长主要靠在“+”极组装 GTP 微管蛋白（图 9-8）。由于微管在结构和生长上均具有极性，因此凡是由微管构成的细胞器也具有一定的极性。微管的极性与有丝分裂后期染色体向细胞两极的移动机制有关。

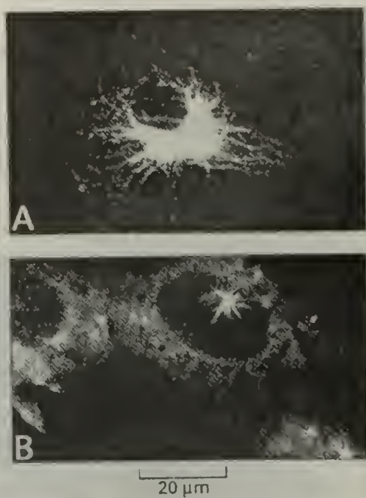


图 9-7 示微管装配动态的免疫荧光照片（自 Alberts 1994）

微管的装配首先从中心粒（MTOC）处开始，然后向细胞边缘延伸

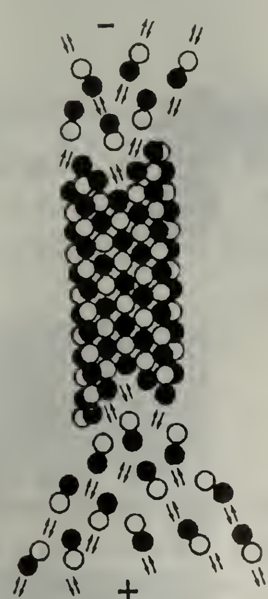


图 9-8 微管的结构和装配均具有极性

在微管的装配和拆卸过程中，两端均要添加和拆除异二聚体，但（+）端的装卸速度大于（-）端

4. 稳定性

在微管生长端，GTP 微管蛋白不断添加到（+）游离端，GTP 微管蛋白在游离端彼此结合，形成了 GTP 帽，此帽可防止微管解装配，从而使微管继续生长。如果 GTP 水解成 GDP，游离端则倾向于解装配。因此，微管总是处于动态不稳定状态中。从中心粒不断长出微管，如果生长着的微管的生长端在细胞皮层特定的区域遇到带帽蛋白（capping protein），则可稳定住游离端，使微管保持稳定。然而那些未结合上带帽蛋白的微管，则会缩回。微管的这种动态分布变化，影响着细胞位移和细胞极性的形成。

四、微管的特异性药物

有些微管结合药物可有效地抑制微管的组装，因此常常被用作细胞内生理活动对微管依赖与否的识别工具。微管结合药物的作用又分为破坏微管和稳定微管两类。

1. 抑制微管组装的药物

目前，已在微管蛋白分子上鉴定出了多种药物的结合位点。在每一个微管蛋白异二聚体上，均具有秋水仙素(colchicine)(图 9-9)的结合位点，可能位于疏水的凹槽内，如果这些结合部位为该类药物所占据，则不能继续添加微管蛋白，从而阻断微管的组装，并引起原有微管的解聚。秋水仙素的类似物——秋水酰胺(colcemid)同秋水仙素的结合位点结合后，也有干扰微管装配、破坏纺锤体形成和终止细胞分裂的作用。还有一种植物代谢产物——鬼臼素（podophyllotoxin）能与秋水仙素的结合位点相结合，为秋水仙素结合的竞争性抑制剂，也具有破坏微管的作用。微管蛋白异二聚体上还有长春花碱（vinblastine）的高亲和性结合位点，该位点与秋水仙素的结合位点无关，也可抑制微管的组装；而且长春花碱的结合多少也增加了秋水仙素的结合。还有报道说，美登本、氯丙榛和 1- 苯胺基 -8- 磺酸萘均可结合到微管蛋白上，且美登本还可竞争长春花碱的结合位点。因此，这些药物均可抑制微管的组装。

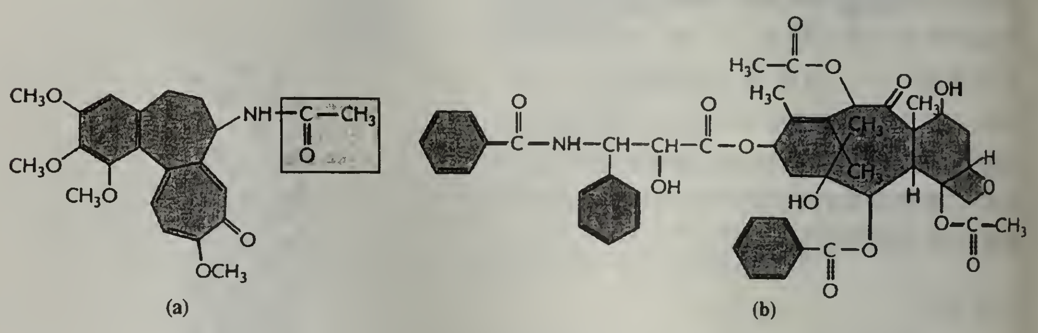


图 9－9　秋水仙素和紫杉酚的分子结构式
(a)秋水仙素；(b)紫杉酚

关于这些药物的作用机制，一般认为，这几种药物结合到微管蛋白上后，形成微管蛋白异二聚体——药物的络合物，改变微管蛋白异二聚体的结构，当被添加到微管的生长端时，可有效地阻止异二聚体的进一步添加，从而抑制微管的组装。

2. 稳定微管的药物

紫杉酚(taxol)、nocodazole 和重水均能促进微管的装配，并稳定已形成的微管。它们也可使细胞分裂停滞在有丝分裂期，对细胞亦非常有害。

五、微管的功能

微管在动、植物细胞的细胞质内广泛分布。从微管存在的部位可以看出，其主要

功能与细胞运动、细胞内细胞器的定位及其迁移、细胞内的物质运输、以及保持细胞形状有关。当然，细胞的许多运动不单是由微管承担，而必须配合另一种细胞骨架成分——纤丝，共同完成。但微管的变化，显然是许多细胞运动的重要结构基础。

1. 支持和维持细胞的形态

微管本身不能收缩，且具有一定的刚性，可自然取直。因而在保持细胞外形方面起支持作用。细胞的各种形态是由微管和其他细胞骨架成分来维持的。例如，除哺乳动物外，脊椎动物的红细胞呈双面凸的椭圆形，这种形状是靠质膜下围绕细胞排列的微管束来维持的。这些微管束构成边缘带，支撑着细胞，并使细胞具有一定的弹性(图 9－10)。如用秋水仙素对细胞进行处理后，细胞即变圆。此外，微管在纤毛、鞭毛、轴突的形成和维持中也具有重要作用。



图 9－10　蝾螈红细胞膜下的微管束
(自 Bertolini, B. et al. 1976)

2. 维持胞内膜性细胞器的空间定位分布

事实上，摩托蛋白与微管的相互作用，不仅与物质运输有关，而且还影响着某些细胞器的空间定位分布。动物细胞中，微管以中心体为中心向四周辐射延伸，一直抵质膜下方。微管近质膜的一端为正端(图 9－11)，驱动蛋白与内质网膜的细胞质面结

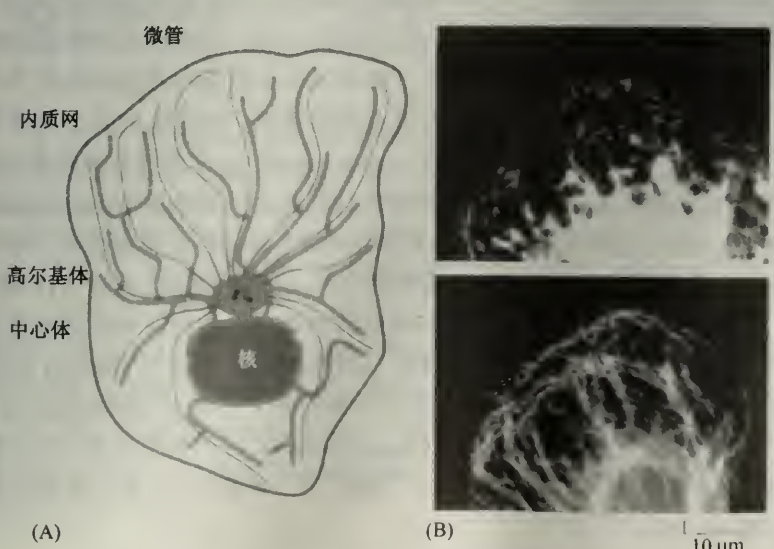


图 9－11　微管对细胞器分布的影响
(A)示微管(细线)的走向与内质网(粗线)和高尔基体(中心体周围)分布的相互关系；
(B)用抗体染色后，显示出内质网分布(上方图)与微管走向(下方图)的对应关系

合，沿微管细胞四周施以拉力，从而使内质网在细胞质溶质中展开分布。反之，细胞质溶质动力蛋白与高尔基体膜结合，沿微管向近核方向牵拉，从而使高尔基体位于细胞中央。如果用秋水仙素处理细胞，破坏微管的装配，则这些细胞器的有序空间排列就会坍塌。内质网由于与核被膜相连，于是便积聚到核附近；而高尔基体因没有这种结构联系，因而便分解成小泡，遍布整个细胞质。当把秋水仙素去除以后，则细胞器的分布重新恢复正常。

3. 细胞内运输

真核细胞具有复杂的内膜系统，从而使细胞质高度分区化，细胞内物质的合成部位往往与其行使功能的部位不同，因此，新合成的物质必须要经过胞内运输才能被运往其功能部位。细胞内的有些物质的定向运送，特别是膜泡运输，与微管的存在有关。这方面最明显的例子是神经元内轴质运输（axon transport），轴质运输分为两种，一种是慢速运输（slow transport），其速度为 1～3mm/d，但运输量大，在游离多核糖体上合成的结构蛋白，如微管蛋白、肌动蛋白、神经丝蛋白、乙酰转移酶等，即是通过这种方式运输。慢速运输的机制尚不清楚，但很可能类似于原生质的流动。另一种轴质运输为快速运输（fast transport），运输的速度为 100～400mm/d。与膜更新有关的蛋白质，如轴突膜、突触小泡膜、前突触膜的蛋白质成分，以及突触小泡等细胞器，都是通过快速运输方式运送（图 9－12）。实验表明，快速运输与微管密切相关。不仅在电镜照片上可看到运输颗粒和微管邻近或相接触，而且用破坏微管的化学药物，如秋水仙素、长春新碱等均有阻断运输的作用。可见，微管在快速运输中具有重要作用。除了神经细胞中的轴质运输外，细胞的分泌颗粒和色素细胞的色素颗粒的运输，也是沿微管运送的。

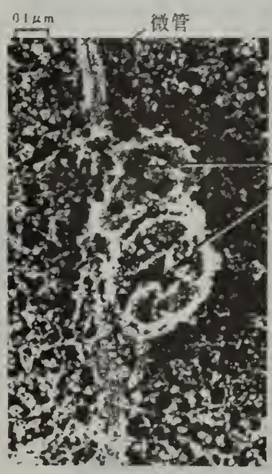


图 9－12　沿微管运动的囊泡
（自 Schuapp，B. J. et al.　1985）

经研究发现，在膜泡和细胞器的胞内运输中，微管是仅为运输物质提供轨道并对运输方向具有指导作用；而运输的动力则来自摩托蛋白（motor protein）。现发现有两种摩托蛋白，即胞质动力蛋白（cytoplasmic dynein）和驱动蛋白（kinesin）。胞质动力蛋白为动力蛋白大家族中的一员，是一个相对分子质量为 1.2MDa 的多亚基蛋白质集合体，由 2 条重链（～530kDa）、3 条中等链（74kDa）和 4 条轻链（55～60kDa）构成，具有 ATP 酶活性，可沿微管由“＋”端向“－”端移动，为膜泡和细胞器的胞内运输和纤毛运动提供动力。驱动蛋白是由两条重链（120kDa）和两条轻链（64kDa）构成的 M_r 为 380kDa 的四聚体蛋白分子，为由 2 个球状头部（直径 10nm）、1 个柄部和 1 个扇形尾部组成的长 80nm 的柱样结构，球状头部中具有摩托功能域（motor domain），可同微管结合。驱动蛋白也是一类微管激活的 ATP 酶，可沿微管由“－”端向“＋”端移动，在胞内物质运输中具有重要作用（图 9－13）。

由于动力蛋白和驱动蛋白沿微管的运动方向相反，因此注定膜泡或细胞器等的运输也具有两个方向，即动力蛋白介导的膜泡或细胞器运输是由远中心体的一端

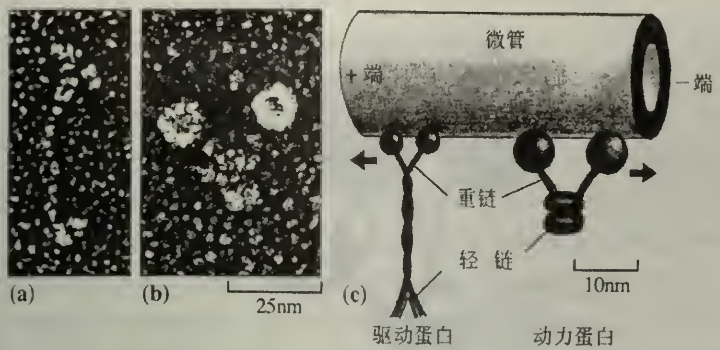


图 9-13 两种摩托蛋白的电镜图像和其与微管结合的方式图解

(a) 驱动蛋白的冰冻蚀刻电镜图;(b)胞质动力蛋白的冰冻蚀刻电镜图;

(c)驱动蛋白和胞质动力蛋白与微管结合方式图解(自 Alberts 1998)

("+"端)向近中心体的一端("-"端)转运,而驱动蛋白介导的运输是由近中心体的一端("-"端)向远中心体的一端("+"端)(图 9-14)。

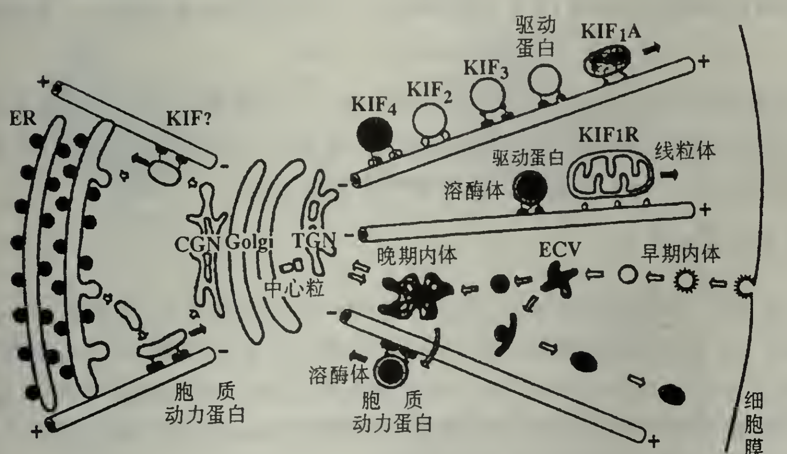


图 9-14 驱动蛋白和胞质动力蛋白介导细胞内膜泡和细胞器运输的模式图解

动力蛋白和驱动蛋白介导膜泡和细胞器沿微管运输的方向相反。动力蛋白介导的运输方向是由远中心体的一端(+端)向近中心体的一端(-端);而驱动蛋白介导的运输是由近中心体的一端(-端)向远中心体的一端(+端)。CGN. 顺面高尔基网;ECV. 内体转运小泡;ER. 内质网;Golgi, 高尔基复合体;KIF(kinesin superfamily),驱动蛋白超家族;TGN. 反面高尔基网(自 Hirokawa, N. 1998)

1998 年,N. Hirokawa 又提出了胞质动力蛋白对膜泡或细胞器的分子识别机制,认为胞质动力蛋白通过 74kDa 中等链、55kDa 轻链、胶联的 P150 与 P135、动态蛋白(dynamitin)、Arp1(肌动蛋白相关蛋白 1)-肌动蛋白短丝及锚蛋白-血影蛋白网同被运输膜泡或细胞器膜上的受体蛋白间接相连,从而识别和结合被运输物,达到选择性运输的目的(图 9-15)。

4. 细胞运动

前面已介绍过,纤毛和鞭毛是细胞的运动细胞器,其主要的构成成分即为微管。此外,有些细胞是靠变形进行移动。如白血细胞通过延伸和收缩细胞质向着一定的方



图 9－15　胞质动力蛋白与膜泡或细胞器之间的识别机制图解

胞质动力蛋白通过 74kDa 轻链、55kDa 轻链、P150(胶联)、动态蛋白(dynamitin)、Arp1－肌动蛋白短丝及锚蛋白－血影蛋白网同被运输膜泡或细胞器膜上的受体蛋白间接相连，从而识别和结合被运输物。Arp. 肌动蛋白相关蛋白(自 Hirokawa, N. 1998)

向移动，其细胞质的运动变化与微管的导向有关。又如脊椎动物胚胎细胞在行原肠运动时，胚孔外的细胞发生变形，卷入胚胎内部。变形时，细胞拉长呈瓶形(故又称瓶形细胞)。在其拉长的颈部，顺长轴方向有成束的微管存在。

5. 纺锤体与染色体运动

有丝分裂时，微管组成纺锤体，纺锤体微管包括着丝点微管、极微管、中心体微管和星体微管。正是由于纺锤体微管的牵引，染色体才能移向两极。进入分裂期时，胞质微管解聚，重新组装形成纺锤体微管，牵引染色体向两极移动；分裂结束后，纺锤体微管解聚，重新组装形成胞质微管。纺锤体微管介导染色体运动的机制为动力平衡假说，即微管的装配和去装配假说(详见第十五章)。

6. 植物细胞壁形成

微管对植物细胞纤维素纤维形成的方向有一定的控制作用。纤维素纤维构成了植物细胞的初生壁和次生壁。在形成细胞壁外，质膜下方有微管排列，其排列方向与质膜外侧纤维素的沉积方向一致(见细胞外基质一章)。用秋水仙素破坏微管。可使纤维素纤维的排列方向受到破坏。

7. 纤毛和鞭毛运动(见下文)

六、微管组成的细胞器

(一)中心体

中心体(centrosome)于 1888 年由 Boveri 首次发现，后来在动物细胞和几种原始藻

类细胞中均找到了这种结构。在光学显微镜下，中心体位于核附近，中心体中含有两个深染的颗粒，称为中心粒(centriole)。中心粒周围围绕有半透明的物质，不含线粒体、核糖体等粒状结构，这些半透明的物质称为中心球(centrosphere)。可以说，除了在发育中不产生鞭毛细胞的物种外，所有真核生物中都有中心粒。中心粒为一短圆筒状结构，在细胞内一般有两个(或多个)，成对存在于核的附近；在中心粒周围透亮的细胞质区，无线粒体、高尔基复合体和核糖体等细胞器的存在，现称为中心粒周围物质(pericentriolar material)。所谓的中心体是由中心粒和中心粒周围物质共同组成。在中心粒周物质中含有数百个由 γ 微管蛋白构成的环。每一个 γ 微管蛋白环是一条微管形成的起点，α、β 微管蛋白二聚体以一定的方向添加到 γ 微管蛋白环上。这样，每条微管的起始端便埋藏在中心粒周物质中，而以正端向外生长(图 9-16)。γ 微管蛋白环是微管生成的真正的诱导起点，起"晶种"的作用，而中心粒不起决定作用。实验表明，只要有 γ 微管蛋白环存在即可引导微管生长，而且所需要的微管蛋白的浓度要比在体外低得多。由此可见，植物细胞中无中心粒，并不能证明无微管组织中心。

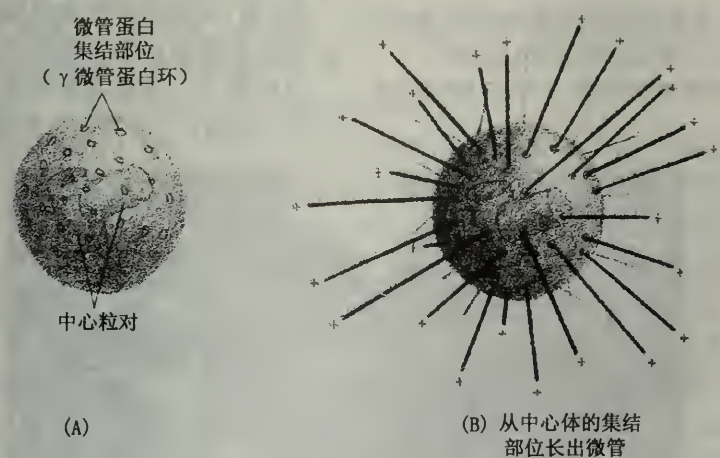


图 9-16　中心体上的 γ 微管蛋白环是微管蛋白集结生长微管的初始部位

(A)中心体中的无定形基质中含有 γ 微管蛋白环，它是微管生长的起始部位；

(B)附着有微管的中心体，微管的负端(-)埋藏在中心体中

在电镜下，中心粒是由 9 组三联体微管围成的一个圆筒状结构，在各种细胞中基本相同。细胞内成对存在的两个中心粒总是在一端相互垂直排列。每一中心粒的直径约为 0.16～0.23μm，长度一般为 0.16～5.6μm，差别较大。中心粒由 9 组微管围成，每组包括了 3 条微管，由内向外分别被编号为 A、B、C(或 1、2、3)亚丝，3 条微管平行排列成片状三联体结构。9 组三联体按一定的角度规则排列，形成了风车状。三联体之间有细丝相连，且在每一三联体的外侧均有被称为随体的致密物质存在。中心粒的轴心向外伸出辐射状的细丝，与每组三联体的 A 丝相连(图 9-17)。

中心粒在细胞内具有自我装配的能力，这在细胞的周期变化和鞭毛的发生过程中表现得非常明显。在分裂后的子细胞中，一对中心粒在一端互相垂直排列；到了 G_1 期后，两中心粒略微分开；进入 S 期后，在每一中心粒的近端附近出现一短的中心粒，称为前中心粒(procentriole)；至分裂前期，前中心粒延长，从而形成两个成熟的中心粒。其中的一对中心粒向另一极移动，与另一对中心粒逐渐分开；在前期末，移到了核的

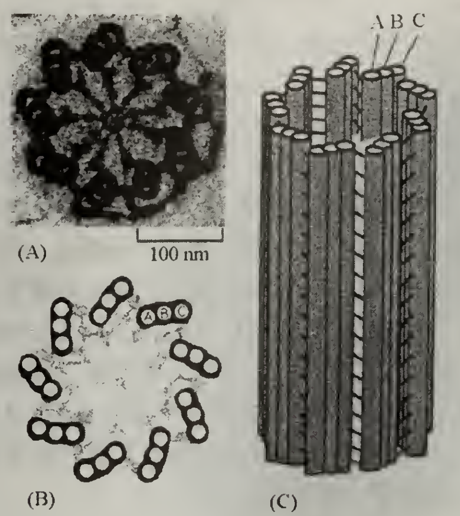
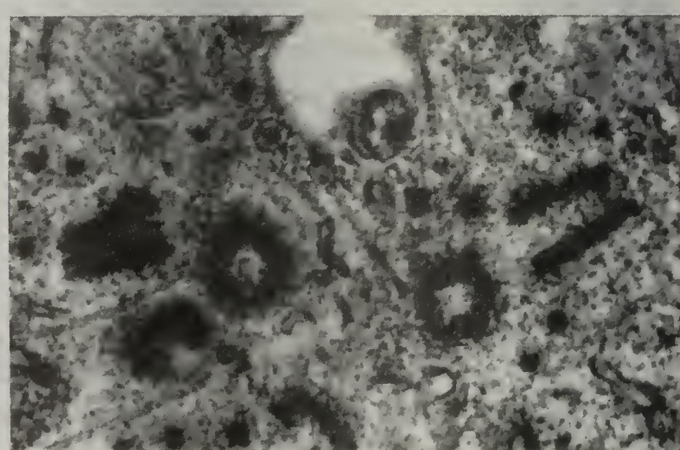


图 9－17　草履虫中心粒的横切面和立体结构
(A) 中心粒结构横切面的电镜图像;
(B) 中心粒结构横切面图解; (C) 立体结构模式图

对侧，从而确定了细胞的两极。新中心粒的发生具有一定的阶段性和顺序性。在装配时，首先形成由 9 条单丝微管围成的环，9 条单丝即成为将来的 A 亚丝；然后，B 亚丝再以“C”字形（横切面）装配到 A 亚丝上；最后，“C”字形的 C 亚丝再装配到 B 亚丝上，此时三联体装配完成，形成了前中心粒。前中心粒一旦形成，便进一步延长（直径不变），直至形成成熟的中心粒(图 9－18)。

成熟中心粒并不是新中心粒形成的先决条件，在无中心粒的条件下，也可形成新的中心粒。例如，丽藻(*Nitella*)、蕨类植物和古裸子植物(如苏铁)等，其所有的细胞中均没有中心粒，但这些植物的特定细胞可以产生带鞭毛的精子，这些细胞在临近产生精子时，出现了中心粒。又如原生动物纳氏虫属(*Naegleria*)，能以变形虫和自由游动的鞭毛虫两种状态生存。当处于变形虫状态时，无中心粒；而当向鞭毛虫转变时，在 30min 内便能形成中心粒。由此可见，新中心粒的形成与成熟中心粒存在与否没有必然的联系。



1 μm

图 9－18　中心粒自我装配的电镜照片
在每对中心粒中，均是一个为横切，一个为纵切，表明每对中心粒中的两个中心粒呈垂直方向排列
(自 McGill, M. et al. 1976)

中心粒和基体同源，均能自我复制，复制时间为 S 期；有时二者还可相互转换。中心粒的主要功能是组织形成纺锤丝、纤毛和鞭毛。

(二) 纤毛和鞭毛

纤毛和鞭毛具有运动功能，是细胞表面的特化结构。有的细胞靠纤毛或鞭毛运动

在液体中穿行，如原生动物中的鞭毛虫和纤毛虫、某些单胞藻类、高等动物的精子等。有的带纤毛的细胞，如高等动物的呼吸道上皮细胞，本身固定不动，而是靠纤毛有规律的摆动，运送物质越过细胞表面。纤毛摆动的频率相当高，如蛙喉上皮的纤毛每秒钟可摆动 10～17 次(图 9－19)。

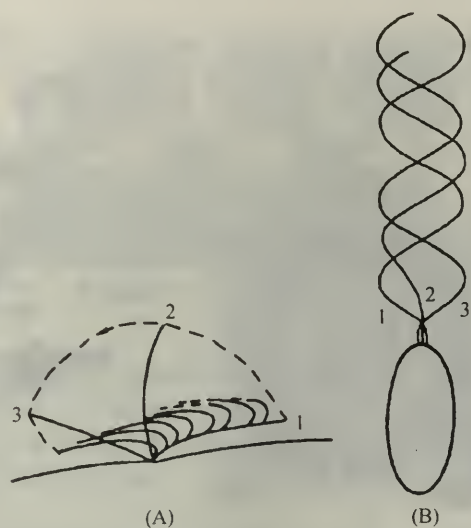


图 9－19　纤毛(A)和鞭毛(B)摆动的方式

1. 结构

纤毛和鞭毛在来源和结构上基本相同。所不同的是，就一个细胞而论，纤毛短而多，而鞭毛则长而少。纤毛长约 5～10μm，直径约为 0.3～0.5μm，每个细胞上约有二三百根。鞭毛的长度可超过 150μm，每个细胞上一般只有一到数根。只有某些原生动物和有的植物精子可带有几千根鞭毛。下面我们将以纤毛为例来进行讨论。

纤毛在整体结构上包括三部分。①纤毛本体：由细胞游离面向外伸出的细柱状突起，表面上包有一层质膜；②基体(basal body 或 kinetosome)：纤毛基部的质膜下方的圆筒形结构，来源于中心粒，其结构与中心粒完全相同，具有 MTOC 的作用；③纤毛小根(ciliary rootlet)：小根除有固定纤毛的作用外，还有收缩作用，横纹处具有 ATP 酶活性。此外，在基体的一侧，从 2～3 个三联体上伸出有由微丝组成的突起，称为基足(basal feet)。基足的不对称性与纤毛的摆动方向有关。纤毛的结构相当精密。纤毛本体的内部是由微管组成的芯，称为轴丝(axoneme)。大多数纤毛的轴丝是属于 9＋2 类型的，外周为 9 组二联丝微管规则排列一圈，称为外周二联丝(peripheral doublet)。每组外周二联丝是由两条微管组成，一条为整管，称为 A 亚丝(A subfiber)，另一条为“C”形半管 B 亚丝。A 亚丝纵向上按一定间隔排列着许多短臂，每一水平上有两条，外侧者为外臂，内侧者为内臂。短臂伸出的方向朝着近邻的外周二联丝的 B 亚丝。A 亚丝为一条整管，由 13 条原丝组成；B 亚丝为一半管，由 10 条(或 11 条)原丝组成，与 A 亚丝共用 3 条原丝。轴丝中央有两条微管，称为中央微管。中央微管的外周包围一层蛋白质性的鞘，称为中央鞘(central sheath)。外周二联丝之间有连接，称为二联丝间连桥(interdoublet link)。外周二联丝和中央鞘之间也有连接，称为放射辐(radial spoke)。放射辐由 A 亚丝伸出，近中央鞘一端膨大，称为辐头(图 9－20)。9 组外周二联丝均有顺序编号。按约定，处在中央微管连线的垂直平分线上的为第一组(d1)，然后依短臂伸出的方向依次编号。两条中央微管，一条与第三组(d3)相对，另一条与第八组(d8)相对，因而分别定为中央微管 3(cm3)和中央微管 8(cm8)，轴丝中的各种微管在纤毛顶端的延伸程度不同，中央微管最长，可达纤毛顶端，A 亚丝较短，B 亚丝最短。

轴丝的基部同细胞质中的基体与中心粒相同，亦为 9 组三联体微管围成，故可称为中心粒。基体的近端为开口，远端(向纤毛的一端)为一层物质所封闭，这层物质称为基板(basal plate)或纤毛板(ciliary plate)(图 9－21)，外周二联丝则穿过基板同相应的基体微管连接。基体的每组微管经轴丝的二联丝多了一条 C 管，形成了三联丝，故一个基体即为一中心粒。有的细胞，纤毛轴丝中无中央微管，属于 9＋0 型。这种类型的纤

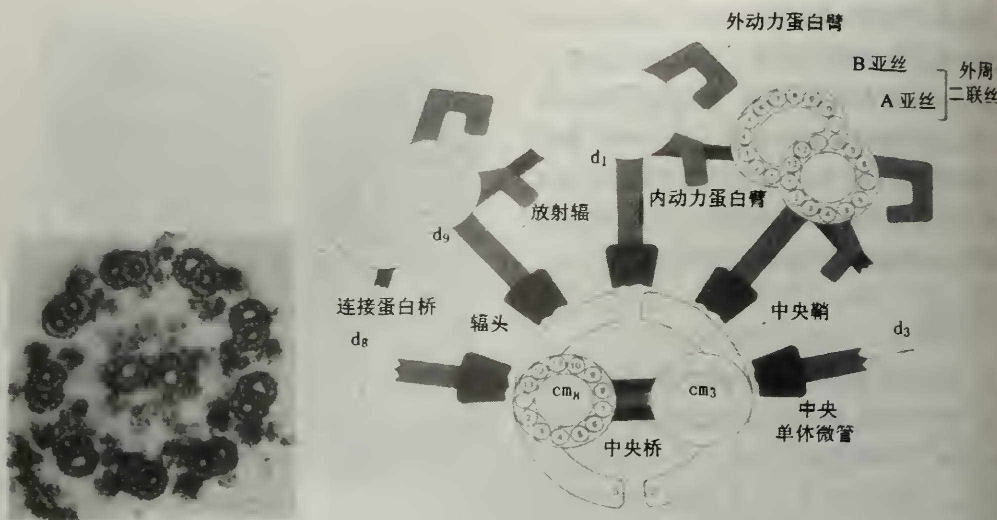


图 9－20　绿藻细胞鞭毛横切面的电镜图像(A)及其模式图解(B)

(A) 在横切面上，“9＋2”型轴丝结构清晰可辨；(B) 横切面的模式图解（自 Alberts 1994）

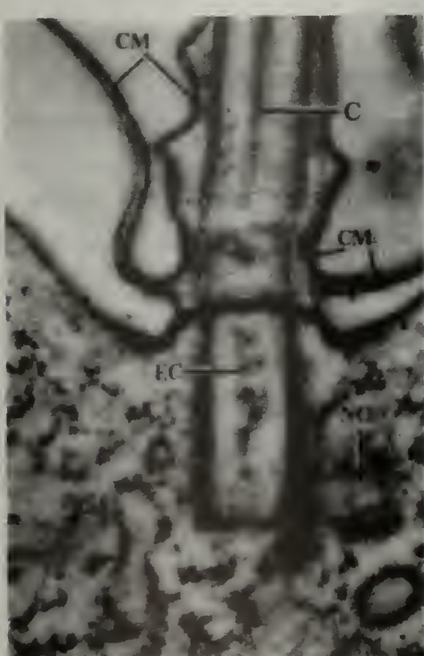


图 9－21　草履虫纤毛纵切面的电镜图像

C. 纤毛轴丝；CM. 细胞膜；EC. 基体；NC. 新生中心粒；BP. 基板

毛为不动纤毛，如内耳前庭毛细胞上的纤毛。

2. 化学组成

轴丝经过离心纯化，分析出含有三种蛋白质。轴丝中的微管与细胞质中的微管一样，也是由微管蛋白聚合而成。实际上，微管蛋白是关系密切的一类蛋白质，A 亚丝的微管蛋白与 B 亚丝中的不完全相同，单条微管的微管蛋白带有一个能与秋水仙素结合的部位，而二联丝微管中的微管蛋白则缺乏这种结合部位。通常这一结合部位为鸟苷二磷酸(GDP) 所占据，秋水仙素可干扰 GDP 与单条微管的微管蛋白结合。

轴丝中的第二种蛋白质称为动力蛋白(dynein)。动力蛋白是一种高 M_r(300～400kDa) 的 ATP 酶，能为 Mg^{2+}和 Ca^{2+}所激活，动力蛋白是构成 A 亚丝上的短臂的主要成分（图 9－22)。如果去掉轴丝中的动力蛋白，则短臂消失。如果再加回动力蛋白，短臂又恢复。A 亚丝上的动力蛋白臂的 ATP 酶活性占纤毛 ATP 酶总活性的 50%，其余的 ATP 酶活性为辐头所占有。经电泳测定，动力蛋白可分为 Ⅰ 和 Ⅱ 两种，A 亚丝短臂中的 ATP 酶活性主要由动力蛋白 Ⅰ 承担。动力蛋白是纤毛运动的动力来源，如果用抗动力蛋白抗体处理纤毛，则可形成动力蛋白－抗体复合物，动力蛋白失活，纤毛亦失去了运动能力。

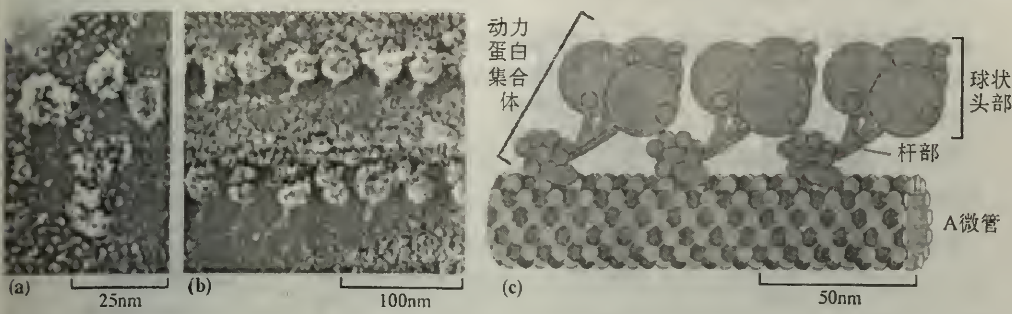


图 9-22 纤毛动力蛋白与部分纤毛的冰冻蚀刻电镜照片及其模式图解
(a) 纤毛动力蛋白的电镜照片，有 3 个球形头部；(b) 部分纤毛的冰冻蚀刻电镜照片，从外周二联丝的 A 微管上规则伸出动力蛋白臂，与相邻外周二联丝的 B 微管接触；(c) 纤毛动力蛋白集合体的模式图解（自 Alberts 1994）

第三种蛋白质称为连接蛋白，位于二联丝连桥之中。其 M_r 为 150~160kDa，功能尚不很清楚。但可能对保持运动中的纤毛的整体性有一定作用。

此外，根据胰蛋白酶消化的实验鉴定，放射辐和中央鞘亦属于由蛋白质成分构成的。

3. 纤毛运动的机制

20 世纪 60 年代以前，关于纤毛运动的机制没有得到很好的阐明。现在一般认为，纤毛运动是相邻二联丝间相互滑动引起的。最早提出滑动模型的是斯德哥尔摩大学的 Afzelius(1959)，但当时还没有得到直接的证据证实这一演说。1968 年，正在芝加哥大学工作的 Satir 等人通过对弯曲和伸直纤毛各段切面的电镜观察，推想是外周二联丝间彼此滑动引起纤毛弯曲。二联丝微管本身并不收缩，从而提出了纤毛摆动的微管滑动假说(sliding microtubule hypothesis)。目前这一假说得到了大家的共认。

纤毛内的两条中央微管分别与第 3 和第 8 外周二联丝相对应，从而把纤毛轴丝分界为两半，一半含有 4、5、6、7 四条外周二联丝，另一半含有 9、1、2 三条外周二联丝。纤毛可以 1、6 二联丝的方向摆动。由于两半所含的二联丝数目不等，故在两个方向上摆动的力量不均，向 6 向摆动力量较大，称为有效鞭击(effective stroke)；向 1 向摆动时，力量较弱，称为恢复鞭击(recovery stroke)。切面显示，纤毛弯曲时，各外周二联丝的末端在纤毛顶梢所处的水平发生变化，这说明二联丝间的位置确实发生相互错动(图 9-23;9-24)。二联丝 A 管上的动力蛋白具有 ATP 酶活性，动力蛋白臂可与相邻的二联丝 B 管发生时附时离的变化，在两组相邻的二联丝间形成暂时性横桥，导致二联丝间相互滑动。同时，放射辐与中央鞘之间也发生周期性的时附时离的相互作用，从而使二联丝间的相互滑动的频率相当高，蛙喉上皮纤毛每秒可摆动 10~17 次。如果发生突变，缺乏合成动力蛋白的能力，纤毛不能摆动，因此精子失去了受精能力。例如卡塔格内综合征(Kartagener syndrome)、患慢性支气管炎和鼻窦炎，此症即是由于缺乏合成动力蛋白能力造成的。

多纤毛的细胞，纤毛在表面上排列长行，摆动时像麦浪一样，定向异时性有规律地波动。这种规律性的起伏波动与细胞质的连续性有关。如果将纤毛行列切断，则分离片段间的纤毛波动即不再协调配合。

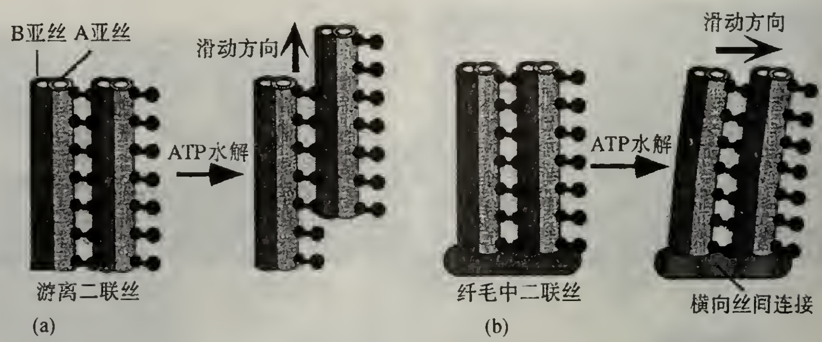


图 9-23　外周微管二联丝之间相互滑动的模式图解

(a) 相临外周二联丝的一端不被固定时，只能发生垂直滑动；(b)相临外周二联丝的一端固定后，便可发生弯曲。动力蛋白只结合在外周二联丝的 A 亚丝上(自 Alberts 1994)

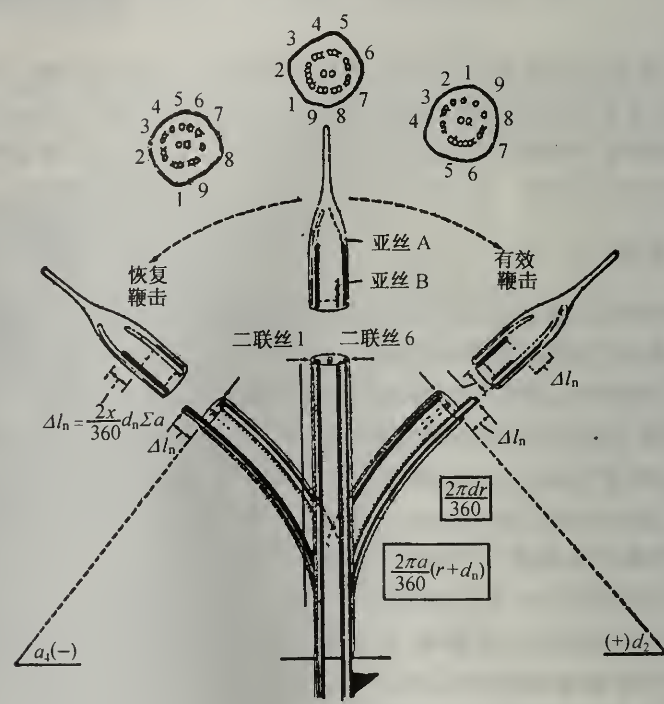


图 9-24　纤毛运动的微管滑动学说图解

近纤毛顶端的横切面显示出外周二联丝中 A、B 亚丝之间的位置变化。纤毛垂直时，所有各组外周二联丝中的 B 亚丝均存在；纤毛弯曲后，外周二联丝 1 或 6 等的 B 亚丝消失，说明 A、B 亚丝之间发生了位置滑动（仿 Satir，P. 1968）

纤毛运动所使用的直接能源为 ATP。在基体周围的细胞质中往往线粒体较集中，为纤毛运动提供所需要的 ATP。ATP 由纤毛基部向顶端扩散。另外，轴丝中尚有腺苷酸激酶，能催化 2ADP→AMP + ATP 反应，这对 ATP 长距离扩散也是一个补偿。

4. 纤毛发生

纤毛是由基体直接产生，基体是轴丝的微管组织中心。去掉基体，纤毛既不能产生也不能再生。前面已说过，基体是一个中心粒，它是纤毛发生的基础。因此，纤毛发生是

从基体形成新基体，然后形成的方式可有不同。原生动物和哺乳动物，在纤毛基体的一侧垂直方向形成新基体，然后成熟的新基体移至质膜下方，顶端向上，引发形成轴丝。出生后的小鼠，输卵管上皮细胞基体的形成则取另一种方式。一个成熟的中心粒发动形成成群的基体。首先在一个成熟的中心粒一端附近合成了大量的微管前体蛋白(microtubular precursor protein)，一部分前体蛋白浓缩成团成为装配微管的前体物质，在其四周辐射状地形成若干前基体(probasal body)。最初形成的每个基体只由9条单微管围成。前基体围绕的中央集中有前体蛋白。随后在单微管上又装配上了第二条微管，继之又增添上第三条微管。中央集存的前体蛋白为微管组装提供的原料，逐渐减少。当前基体变为成熟基体，即移至膜下一定部位，产生出纤毛(图9－25)。基体的外周A、B微管直接延伸形成轴丝二联丝。C微管不伸进纤毛中。中央微管则由基体上方之轴体发出。轴丝二联丝通过顶端生长而延伸，所需之蛋白质系经扩散或运输抵达顶端。纤毛发生的控制机制还不十分清楚。纤毛生长到一定程度即停止聚合。有人对衣藻鞭毛的再生做过观察。衣藻带有两条鞭毛，当一条被切去后可再生，再生过程中另一条完整的鞭毛暂时萎缩。这时即使阻断新蛋白质合成，受伤的鞭毛亦可再生达一定长度。因而可以认为，鞭毛的再生系利用细胞质中的微管蛋白库和完整鞭毛的蛋白质为前体物的。

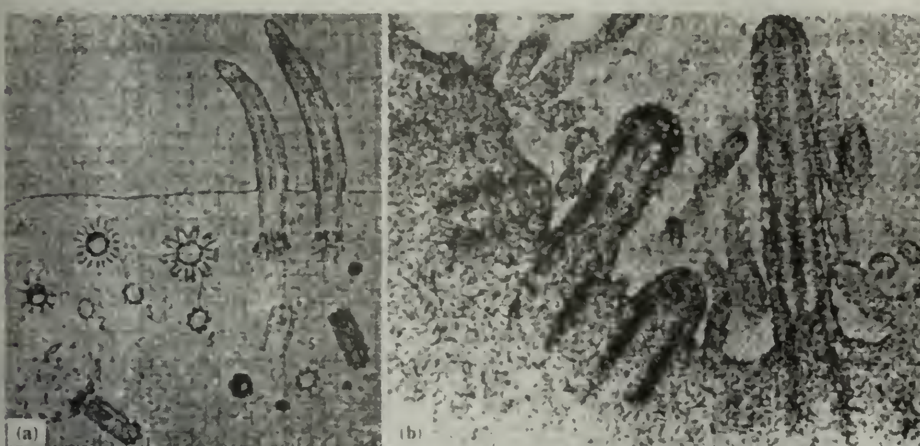


图9－25　小鼠输卵管上皮细胞的纤毛形成过程图解

(a)1. 在成熟中心粒的一端合成微管前体蛋白；2. 前体蛋白浓缩形成前基体(最初由9条单微管围成)；3. 中心的前体蛋白在单微管上装配上第二条微管；4. 前基体增加第三条微管；5. 基体成熟移至膜一定位置；6. 基体产生纤毛。(b) 基体长驱直入纤毛的电镜图像

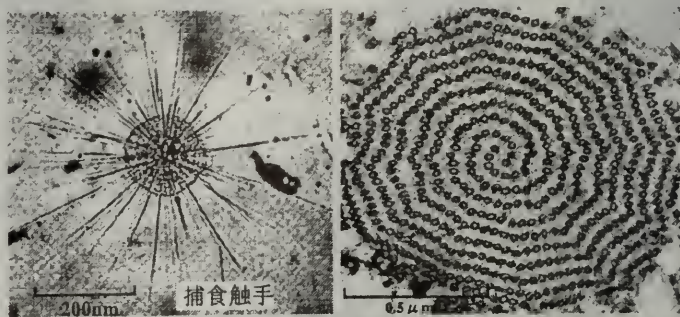
(三) 有丝分裂器

有丝分裂器(mitotic spindle)是细胞分裂时出现的一种微管系统，与姊妹染色单体移向两极有关(详见第十五章“细胞增殖和细胞周期”)。

(四) 轴足(axopodia)

原生动物纤毛虫纲的有盘亚纲 (Suctoria) 动物，周身向外伸出很长的轴足 (图9-26a)。轴足能伸缩，是猎捕食物的“器官”，轴足中有由微管整齐排列而成的轴丝。例如太阳虫(*Actinosphaerium*)轴丝，在横切面上显示出，微管排列成双螺旋(图9－26b)，

这是由微管组成的细胞结构的又一例。轴足中轴丝微管之间亦有类似纤毛动力蛋白臂的结构。轴足的伸缩有可能是轴丝微管的排列次序发生变动所致。细胞上的各个轴足的伸缩变化是不统一的。轴丝微管不稳定，不断发生装配和拆卸变化，有时在几分钟内就拆卸，随后在 1h 内又利用细胞质中的微管蛋白库的分子重新装配起来。当微管受到秋水仙素专一性破坏后，亦能很快重新形成。关于细胞如何指导微管的这种拆卸和装配过程，至今尚不清楚。



(a)　(b)

图 9－26　太阳虫的光镜照片(a)及一条轴足横切面的电镜照片(b)

(a)太阳虫向周围伸出许多辐射样轴足；(b)一条轴足在横切面上排列成双螺旋，呈十二面体对称

七、细菌鞭毛

某些杆菌和弧菌在表面上长有线状的运动结构，亦称为鞭毛。它没有"9＋2"式的微管结构，细菌鞭毛无论是在结构上还是在运动机制上，与真核细胞的鞭毛完全不同，但在外形和功能上二者有相似之处，故在此处作一简略对比介绍。

鞭毛可分为鞭丝、弯钩和基粒 3 部分(图 9－27)。基粒包括四个环，两个和质膜相连，两个和细胞壁相连。在质膜内侧具有一大的转子(motor)，质膜内还有一结构环绕着转子，起定子(stator)作用，转子和定子相互配合，从而使细菌的鞭毛能进行旋转运动。在细胞壁的外面，鞭毛的基部包围着一层弯形鞘，称为弯钩(hook)。鞭毛的远段为鞭丝。鞭毛的长度可达 10～15μm，鞭毛外表无质膜包围。

鞭丝的化学成分为约 40kDa 大小的鞭毛蛋白(flagellin)。鞭毛蛋白聚合成长链，3 条链组成 1 条鞭毛。在化学性质上鞭毛蛋白与肌动蛋白相似，同样含有很高比例的带负电荷的极性氨基酸，如天冬氨酸和谷氨酸等。鞭毛蛋白无 ATP 酶活性。弯钩和基粒的蛋白质成分不同于鞭毛蛋白。

细菌鞭毛的运动方式是旋转，其旋转的方向有顺时针和反时针两种。有人发现顺时针和反时针有一定的交替周期性。鞭毛的旋转推动细胞运动。反时针旋转时，鞭毛集中成束，推动细胞直线前进。有诱物时，鞭毛反时针旋转，细菌向诱物运动。遇到有害刺激时，则顺时针旋转，鞭毛散开，细菌翻滚避开，向另一方向游动。细菌鞭毛旋转运动的直接能源不是 ATP，而是质子跨膜梯度。细菌质膜两侧保持着一定的质子梯度，使质膜保持有高能状态，这种高能状态驱动鞭毛旋转。

鞭毛亦具有自我装配现象，在体外溶液中，利用调节 pH 值，可使鞭毛的生长蛋白自行解聚和聚合。鞭毛蛋白亚基本身贮存有形成鞭毛结构的全部信息。在细胞分裂时，细菌合成新的鞭毛，均数分配到 2 个子细胞。细菌鞭毛的生长为末端延长。在细胞

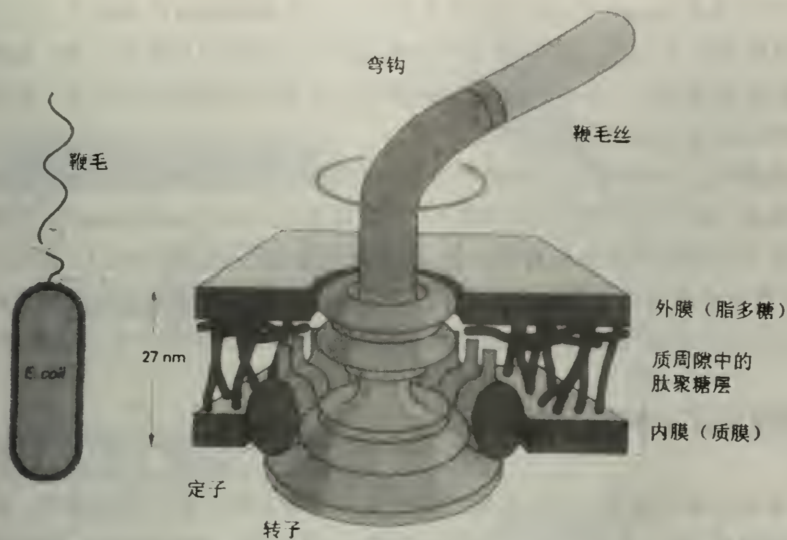


图 9－27 大肠杆菌鞭毛基部结构模式图

鞭毛可双向旋转，当反时针旋转时(如图中所示)，鞭毛可集合成束，推动细菌向一个方向迁移；当鞭毛以顺时针方向旋转时，鞭毛散开，细菌发生翻滚运动而逃之夭夭(自 Francs, N. R. 1992)

内合成的鞭毛蛋白通过鞭毛的空芯，运至末端而聚合，使鞭毛连续增长，一直达到应有的最大长度。如果鞭丝断折，则仍可再生补足丢弃的部分。细菌鞭毛的结构和外形是由鞭毛蛋白的结构特性所决定的。

第二节 纤 丝

纤丝 (filament) 是广泛存在于各种真核细胞中的一类丝状结构，对细胞具有多种重要功能。据其粗细和化学性质又可分为微丝 (microfilament)、中间丝 (intermediate filament) 和粗丝 (thick filament) 三类。微丝的直径为 6～7nm，由肌动蛋白组成，又名肌动蛋白丝，其长度不定，多分布在近细胞膜的下方 (图 9-28)；中间丝的直径为 10nm，



图 9－28 BHK－2 细胞的一个细胞突起切片电镜图

示微管(MT)、微丝(MF)和中间丝(IF)

又称中等纤维或 10nm 丝，其化学性质和功能在各种细胞内差异较大，故可分为若干种；粗丝的直径为 15nm，仅存在于肌肉细胞中，为纤丝中最粗的一种，由肌球蛋白组成，又名肌球蛋白丝。虽然在非肌肉细胞中也发现了肌球蛋白的存在，但至今为止仍未找到与肌球蛋白丝相似的粗丝。

一般来讲，一种细胞中并不同时含有三种纤丝，但肌肉细胞特殊，同时含有微丝、中间丝和粗丝。粗丝仅存在于肌肉细胞中，又称粗肌丝(thick myofilament)。在肌肉细胞中的微丝也与非肌肉细胞中的有所不同，称为细肌丝(thin myofilament)。我们先以肌纤维为例，来介绍纤丝的分子结构和功能，这不仅是因为肌肉的结构及其收缩机制研究得非常深刻，而且弄懂肌肉的收缩机制显然有助于理解非肌肉细胞中各种运动的机制。

一、横纹肌的结构及收缩机制

横纹肌又称骨骼肌，因其收缩活动可受意志的支配，故又称随意肌。横纹肌是由肌纤维所组成，每一条肌纤维含有若干细胞核，因而是一种多核细胞，肌纤维外表的质膜称为肌膜，内部的细胞质称为肌浆。每一条肌纤维又含有若干细的肌纤维(myofibril)，在显微镜下可看出，肌原纤维上整齐地排列着许多明暗相间的带。明的称为明带，又称 I 带；暗的称为暗带，又称 A 带。在明带中央有 1 条暗线，称为 Z 线。两条相邻的 Z 线之间为 1 个结构单位，称肌节(sarcomere)，在暗带中央有一条明带，称为 H 带。H 带中央有 1 条暗线，称为 M 线(图 9-29；9-30)。在电镜下显示出每一肌节是由粗细 2 种肌丝平行相间排列组成(图 9-31)。粗肌丝(thick myofilament)占据了每一肌节的 A 带，细肌丝(thin myofilament)的一端与 Z 线相连，另一端插入 A 带中，因而明带中含有细肌丝。在 M 线处，粗肌丝发出 M 桥，与相邻的 6 条细肌丝相连(图 9-32)。肌肉收缩时，A 带长度不变，而 I 带和 H 带缩短，甚至消失。

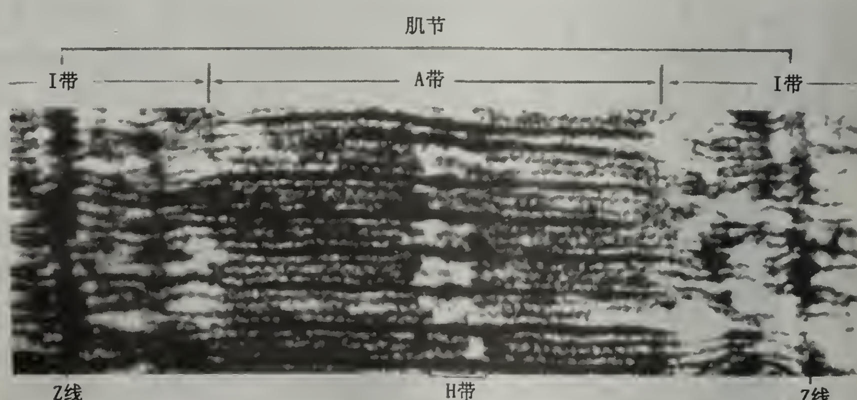


图 9-29 横纹肌肌节结构电镜图

图中两条相邻 Z 线之间的区段称为肌节，图显示出肌节中粗细肌丝的相互关系。I 带即明带跨越 Z 线两侧，只由细肌丝组成。A 带又称暗带，由粗细两种肌丝组成。H 带只有粗肌丝，H 带的宽窄随肌肉收缩状态不同而有变化。H 带中央，粗肌丝间有横桥相连，显示为 M 线

(一)肌丝的分子结构

肌丝是肌纤维中最基本的结构单位。粗肌丝和细肌丝不仅有粗细差别，而且在化

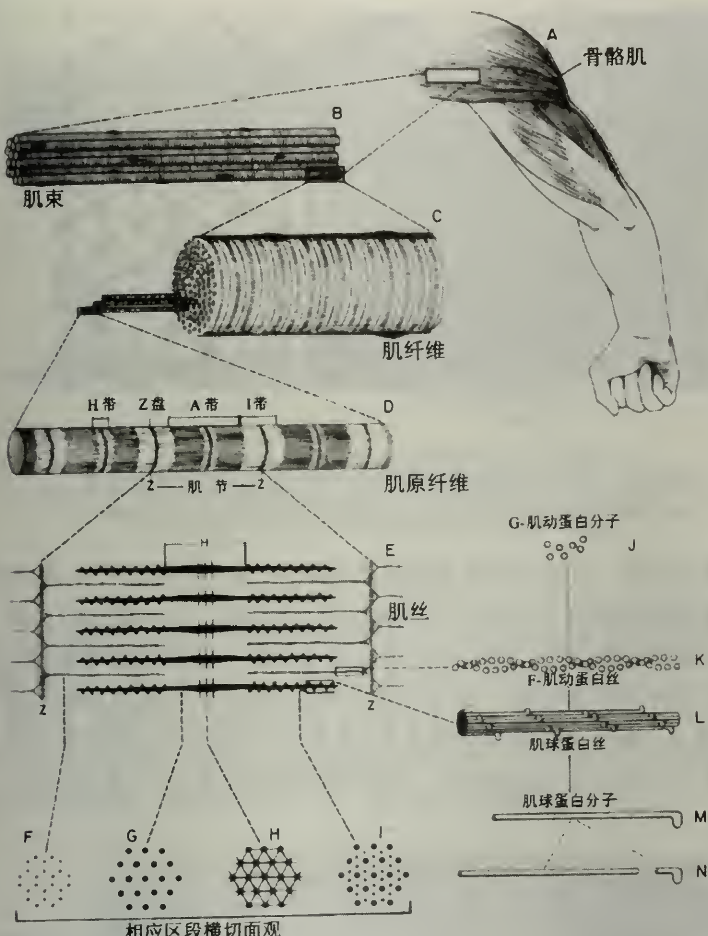


图 9-30 横纹肌(骨骼肌)各级结构示意图

肌原纤维中两条相临的 Z 线之间的区段为一个肌节,肌节是肌原纤维的收缩单位

学成分上也有本质的差别。肌丝的分子结构和化学性质是肌肉收缩的结构基础。

1. 粗肌丝

粗肌丝的化学成分主要为肌球蛋白(myosin)。肌球蛋白约占肌细胞总蛋白含量的 50%,它是一种长约 160nm 纤维蛋白,M_r 为 450kDa,为由 6 条多肽链组成的杆状分子。整个分子包括 1 个头部(20nm)和 1 条尾部(150nm)。尾部是由 2 条称为重链的长肽链以 α-双螺旋缠绕而成,每条重链的 M_r 为 200kDa。2 条重链的末端和 4 条小的轻链盘曲成了球形头部。

肌球蛋白分子的多肽链上具有蛋白酶的敏感性位点。用胰蛋白酶(trypsin)可将肌

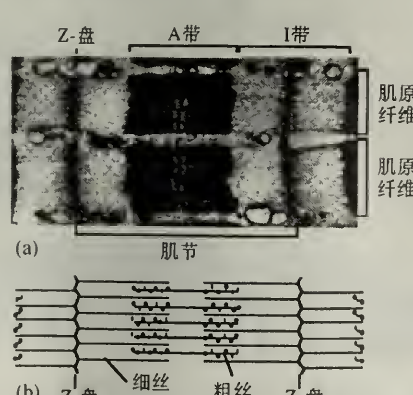


图 9-31 肌原纤维的电镜图像及其模式图解

(a)2 条肌原纤维的电镜图像;(b) 一个肌节的模式图解,示明带和暗带的来源

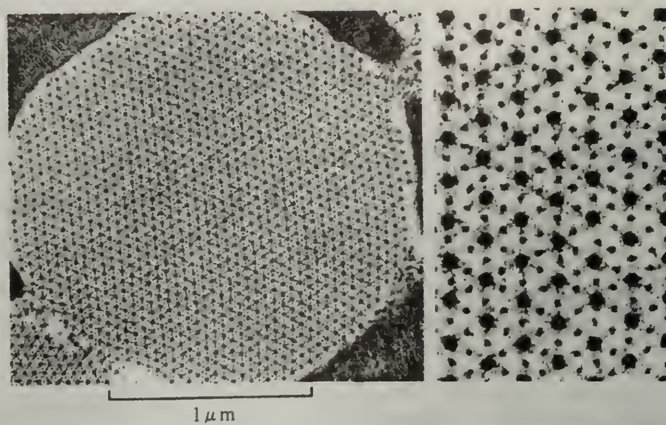


图 9－32　昆虫飞翔肌的电镜照片(示粗、细丝之间的位置关系)
粗丝和细丝规则排列呈晶格状,每一条粗丝周围规则排列有 6 条细丝

球蛋白分子水解为两段,水解后的称为酶解肌球蛋白(meromyosin),一段 M_r 大,约为 360kDa,称为重酶解肌球蛋白 (heavy meromyosin, HMM),另一段 (F3) M_r 小,约为 150kDa,称为轻酶解肌球蛋白(light meromyosin, LMM)。重酶解肌球蛋白包含肌球蛋白分子的头部,具有 ATP 酶活性。用木瓜蛋白酶(papain)又可将重酶解肌球蛋白分解成 F1 和 F2 两段,F1 相当于肌球蛋白的头部,具有 ATP 酶活性。肌球蛋白分子的 2 个酶解部位相当于分子的 2 个"活动关节",在肌肉收缩时发挥作用(图 9－33)。

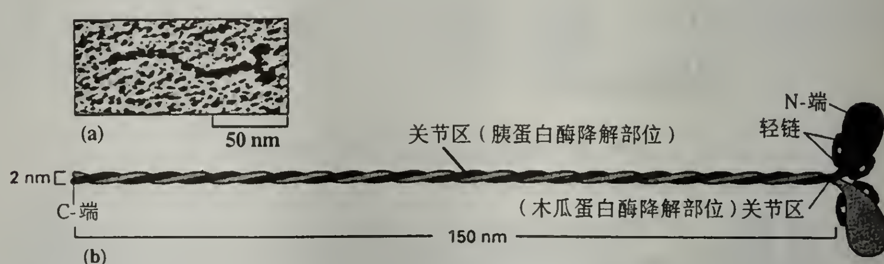


图 9－33　肌球蛋白的电镜图像和分子结构
(a) 肌球蛋白的电镜图像:肌球蛋白分子可分为球形头部和杆状尾部两部分; (b) 肌球蛋白分子含有 2 条重链(2000aa)和 4 条轻链 (2 条 190aa、2 条 170aa)。2 条重链的疏水性 C 端为 α 螺旋结构,相互缠绕,形成杆状尾部; N 端则形成球形头部。4 条轻链又分为 2 类,每类中各有 1 分子结合到每条重链的头部(仿 Alberts　1994)

肌球蛋白分子平行交错排列成肌丝。每一条粗肌丝可分为均等的两段,两段的肌球蛋白分子以尾端相对。因此,肌球蛋白的尾部朝向粗肌丝的中央,而头部朝向粗肌丝的两端(图 9－34)。

每条粗肌丝约由 4000 个肌球蛋白分子规则排列而成。各分子的头部在粗肌丝上的排列具有一定的间隔距离。粗肌丝中除肌球蛋白外尚有 C 蛋白和 M 线蛋白,前者沿肌球蛋白分子尾规则分布,把各肌球蛋白分子紧密连接起来。M 线蛋白的作用是把相邻的粗肌丝连起来。

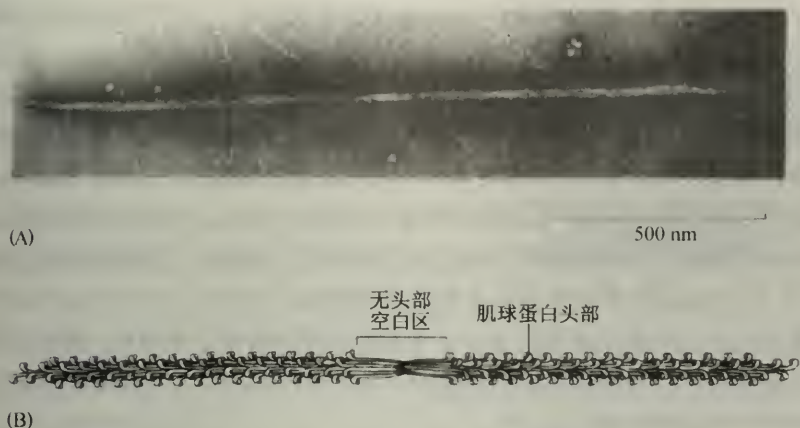


图 9-34 粗肌丝的电镜图像及其模式图解

(A) 从扇贝肌肉中分离出的粗肌丝的电镜图像；(B) 在粗肌丝中，肌球蛋白分子以其尾部相互聚集在一起，其头部向四周伸出(自 Alberts 1994)

.. 细肌丝

直径约为 6nm。主要化学成分为肌动蛋白。哺乳动物骨骼肌含肌动蛋白 20% ~ :5%。肌动蛋白的 M_r 为 47kDa。在缺乏离子时，成球形单体存在，为 G 肌动蛋白 globular actin)。在中性盐溶液中，如 0.1mol/L KCl，则聚合成长链双螺旋，为 F 肌动蛋白 (fibrous actin) (图 9-35)。肌动蛋白分子上有可与肌球蛋白头部结合的部位，二者结合后可形成横桥。肌肉舒张时，这一部位为原肌球蛋白所占据。

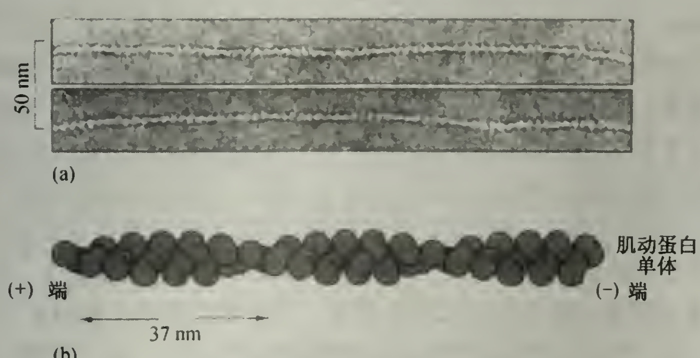


图 9-35 细肌丝的电镜图像及其模式图解

(a) 肌动蛋白丝的负染色电镜图像；(b) 由肌动蛋白单体形成了紧密缠绕的螺旋状结构(自 Alberts 1994)

除肌动蛋白以外，细肌丝中尚含有如下一些肌动蛋白结合蛋白：

(1) 肌球蛋白 (myosin)：是由 2 条多肽链盘绕成的双股 α 螺旋结构，在结构上可分为头部和尾部。头部具有 ATP 酶活性，是与肌动蛋白分子结合的位置。其主要功能是参与肌丝收缩。

(2) 原肌球蛋白 (tropomyosin, Tm)：原肌球蛋白占收缩蛋白的 10%，是由 2 条平行的多肽链形成的 α-螺旋结构，长约 40nm，双螺旋链彼此首尾相接，连成更长的链，位于肌动蛋白丝的螺旋沟内。每条肌动蛋白双螺旋链均有原肌球蛋白双螺旋链与之结合，二者相伴而行，且每一分子的原肌球蛋白双螺旋链跨越的长度相当于 7 个肌动

蛋白分子排列的长度。原肌球蛋白与肌动蛋白丝结合后可调节肌球蛋白头部和肌动蛋白的结合。

(3) 肌钙蛋白 (troponin, Tn): 肌钙蛋白是一种特大球蛋白, 由 3 个亚基组成: ①钙结合亚基(TnC), 又称为肌钙蛋白 A, M_r 为 18kDa,能同 2 个钙离子特异性结合, 引起肌钙蛋白构象发生变化。②抑制亚基(TnI), M_r 为 23kDa,有一部位可同肌动蛋白相结合,但不结合钙离子。TnI 可抑制肌球蛋白头部的 ATPase 活性,并抑制肌动蛋白与肌球蛋白头部接触, 使肌球蛋白与细肌丝之间形不成横桥。③原肌球蛋白结合亚基(TnT), M_r 为 37kDa,对原肌球蛋白具有高度亲和力。

肌钙蛋白分子和原肌球蛋白分子在细肌丝上规则分布, 每 40nm 就有 1 个肌钙蛋白分子。这样,每 7 个球形肌动蛋白分子的长度中平均就有 1 个肌钙蛋白分子和 1 个原肌球蛋白分子(图 9 - 36)。

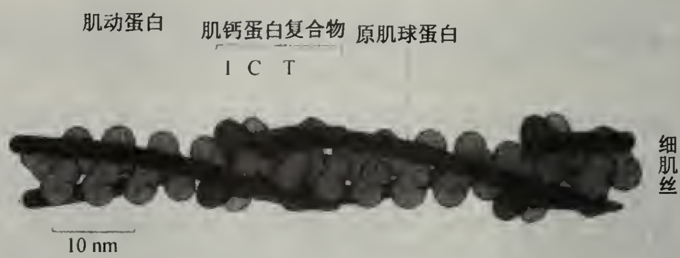


图 9 - 36　细肌丝中原肌球蛋白、肌钙蛋白与肌动蛋白的相互关系

I、C、T 分别代表肌钙蛋白的 3 个亚单位 (自 Alberts　1994)

(4)其他结合蛋白: 作用是将肌动蛋白丝固定在 Z 线或质膜上。有 ① CapZ: 位于肌肉细胞的 Z 线处,与肌动蛋白丝的“+”极结合,具有阻止肌动蛋白丝解聚和稳定肌动蛋白丝的作用。②原调蛋白 (tropomodulin): 与肌动蛋白丝的“-”极结合, 作用同 CapZ。③黏着斑蛋白(vinculin): M_r 为 130kDa, 具有将肌动蛋白丝连接到质膜上的作用。④ α - 辅肌动蛋白(α-actinin): 为杆状分子, M_r 为 190kDa,通常为两个相同多肽的二聚体,主要存在于 Z 线中、肌动蛋白微丝之间以及肌动蛋白微线同质膜相连的部位,它一般是结合在肌动蛋白丝的端点, 将多个肌动蛋白丝的端点黏接在一起。α - 辅肌动蛋白可介导肌动蛋白和组蛋白之间的连接, 并能横向将肌动蛋白丝连接成束。⑤ nebulin: 大小为 700kDa,形成长纤维,从 Z 线延伸至微丝的“+”,与微丝的聚合长度有关。⑥结蛋白(desmin),主要存在于 Z 线中,具有连接相邻肌节的功能。

(二) 肌肉收缩的机制

肌肉收缩时,总长度缩短。赫胥黎(H. E. Huxley　1957, 1971)等人利用电镜观察了肌肉收缩时, 肌原纤维的变化。结果发现, A 带长度不变,而 I 带的长度随收缩程度不同而变化。由此推想,粗肌丝的长度是不变的。从一个肌节中的 H 带的末端到下一个肌节 H 带的起端,这一距离等于 Z 线两侧伸出的细肌丝的总长度。当肌肉最大收缩时,H 带消失,而这一距离的总长度不变。可见细肌丝的长度也没有缩短。根据这些现象, Huxley 和 Hanson 于 1959 年提出了肌肉收缩的滑动学说 (sliding filament model), 主张肌肉收缩时,肌纤维长度的改变是两类肌丝相互间滑动的结果(图 9 - 37)。

肌肉收缩时的能源为 ATP。体外实验证明,当把纯肌球蛋白和肌动蛋白在肌纤维中含有的盐类中加以混合,即会发生显著的变化。混合物的黏度远远大于两种溶液的

黏度之和。在电镜下看出，这两种蛋白质通过电结合，形成了羽状结构。这种羽状复合物称肌动球蛋白（actomyosin complex），所含的两种蛋白质具有一定的比例（1∶4），相当于肌肉中这两种蛋白质的比例。在有 ATP 和 Mg^{2+}、Ca^{2+}时肌动球蛋白复合物发生收缩，可缩短 1/3，ATP 随之水解成 ADP 和 Pi。肌动蛋白和肌球蛋白再度结合。这些变化反映了肌纤维内肌动蛋白丝与肌球蛋白丝之间横向连接的建立与分开的过程。

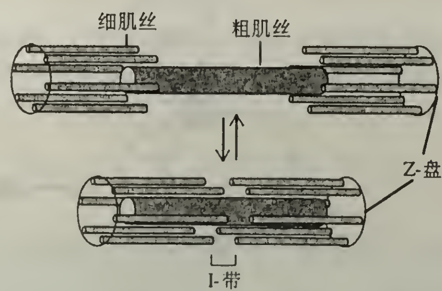


图 9－37 肌肉收缩的滑丝假说图解
肌肉收缩过程中，粗、细肌丝相互滑动而使肌节缩短（I 带变短），二者自身的长度并不缩短

肌肉收缩的滑丝（动）学说已为许多实验证实。下面我们将根据滑丝学说，阐明肌肉收缩的变化过程。这一过程大体上可分作 5 个步骤：

1. 动作电位的产生

每条肌纤维上均有神经分支分布，形成神经肌肉连接。当神经冲动抵达神经末梢时，神经细胞的突触小泡破裂，向泡外释放神经递质——乙酰胆碱。这种化学物质和肌膜上的受体结合，引起肌膜极化，产生动作电位。动作电位沿着肌膜传递到肌纤维内部的横小管系统（见图 9-38）。横小管两侧同肌质网的端池（terminal cisterna）相接触。因而横小管的电位变化引起了肌质网端池膜的透性发生改变。

2. Ca^{2+}的释放

在肌肉处于舒张状态时肌浆中的 Ca^{2+}浓度极低，约为 $10^{-7}\sim10^{-8}$ mol/L，这一浓度不足以引起肌肉收缩。肌质网端池中 Ca^{2+}浓度可相当于肌浆中的上千倍。当肌质网膜受横小管动作电位影响时，透性突然提高，端池内 Ca^{2+}大量涌入肌浆内，使肌浆内的 Ca^{2+}浓度迅速提高，可达 $10^{-6}\sim10^{-5}$mol/L，10^{-6}mol /L Ca^{2+}浓度是引起肌肉收缩的必需浓度。

3. 原肌球蛋白的位移

当肌浆中 $[Ca^{2+}]$ 达到 10^{-6}mol/L 时，Ca^{2+}即可和肌钙蛋白的 TnC 亚基结合。在 TnC 结合 Ca^{2+}前，肌钙蛋白的三个亚基彼此处于松散状态，一旦 TnC 结合上 Ca^{2+}，立即引起肌球蛋白分子发生构象变化，三个亚基彼此紧密靠拢，TnI 亚基同肌动蛋白的连接减弱，并从肌动蛋白上的原结合部位移开，肌钙蛋白牵引着原肌球蛋白移向肌动蛋白双螺旋沟的深部。因而使肌动蛋白上原来被原肌球蛋白占据的肌球蛋白结合部位暴露了出来（图 9－38）。

4. 肌动球蛋白复合物的形成

由于原肌球蛋白的移位，在肌动蛋白上暴露出的部位可和肌球蛋白分子头部结合，在两种肌丝间建立横桥接触。肌球蛋白和肌动蛋白结合后，形成肌动球蛋白复合物。肌球蛋白分子头部具有 ATP 酶活性，使 ATP 分解为 ADP 和 Pi，当头部接触到肌

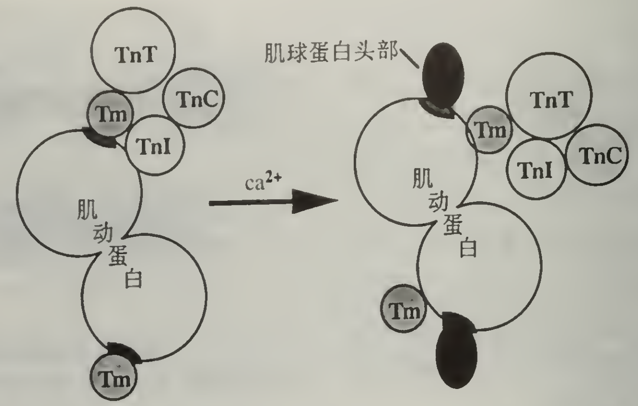
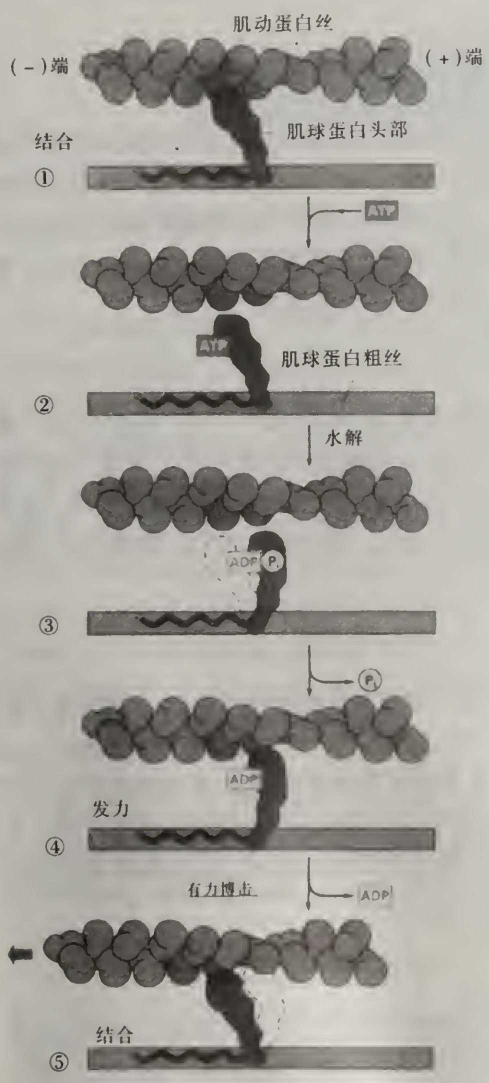


图 9-38　肌肉收缩过程中肌钙蛋白分子的调节作用图解

Tm. 原肌球蛋白分子



动蛋白丝时，ADP 和 Pi 被释放，头部构象发生改变，而向着 M 线方向倾斜，从而推动肌动蛋白丝移动一定距离。肌球蛋白释放了 ADP 和 Pi 产物后，又可与另 1 个 ATP 分子结合，随之横桥与肌动蛋白分开，然后又重复上述步骤。因而横桥同肌动蛋白时接时分，推动肌动蛋白向同一个方向滑动，肌肉发生收缩。每一次滑动消耗 1 个 ATP，移动 10nm 兔的肌纤维的滑丝循环可达 50～100 次循环/s。横桥与肌动蛋白结合后，如无 ATP 供应，则横桥不能与肌动蛋白丝分开，而形成肌动球蛋白僵直复合物。死后，肌肉僵直即因 ATP 耗尽之故。肌球蛋白结合 ATP 后，可分为两种状态，起先处于低能状态，ATP 水解后，则处于高能状态。后一状态倾向于同肌动蛋白结合，上述过程可用图解表示(图 9-39)。

图 9-39　肌球蛋白分子利用 ATP 的水解能从细肌丝的"-"端向"+"端的移动机制图解

①紧密结合在肌动蛋白上的肌球蛋白头部 结合 ATP 后，与肌动蛋白的亲合力降低，②从肌动蛋白丝上脱落下来；③ ATP 水解成 ADP 和 Pi，仍然结合在肌球蛋白头部；④肌球蛋白头部释放出 Pi，再与肌动丝紧密结合；⑤肌球蛋白头部发生剧烈的构象变化，产生"有力鞭击"，同时肌球蛋白头部释放出 ADP，使它又回复到下一次新循环的起点

由图中可以看出，粗肌丝头部与细肌丝结合、分离 1 次，即消耗 1 个 ATP 分子，并拨动细肌丝移动 1 个穴位，完成 1 个周期。肌节发生有效收缩时，横桥与细肌丝的结合、分离可快速地连续重复若干次。而且各个横梁的活动是密切配合的。肌纤维收缩最充分时，其长度可为舒张时的 65%。

5. Ca^{2+}的回收

神经冲动传导过后，肌质网的透性降低，肌质网膜上的 Ca^{2+}激 ATP 酶（钙泵）与肌浆中的 Ca^{2+}结合，利用水解 ATP 释放的能量，通过主动运输的方式，把 Ca^{2+}又抽回到肌质网腔中。肌浆中的钙离子浓度降低到 10^{-7}mol/L 以下时，肌肉恢复到静息状态。当再次传来神经冲动时，又可发生收缩。回收到肌质网池中的 Ca^{2+}，同肌质网内表面的集钙蛋白（calsequestrin）相结合，一个集钙蛋白分子可结合 43 个 Ca^{2+}，从而降低了腔内游离钙离子的浓度。

肌肉收缩要消耗 ATP，但肌浆中 ATP 的备用量不足以维持长时间肌肉收缩活动，因而 ATP 必须不断得到补充。脊椎动物肌肉中含有一种称为磷酸肌酸（phosphoreatine）高能化合物，其浓度约为 ATP 的 5 倍，磷酸肌酸在肌酸磷酸酶作用下脱去磷酸，产生肌酸和 ATP，从而使 ATP 得到补充。

$$\text{磷酸肌酸} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{肌酸磷酸酶}} \text{肌酸} + \text{ATP}$$

肌肉收缩中，ATP 不断得到补充，因而其浓度保持恒定。当磷酸肌酸耗尽时，ATP 水平即要下降，这时通过一系列反馈过程，调节呼吸和糖酵解的速率，加快 ATP 的形成，而得以补充 ATP。

二、平滑肌收缩机制

平滑肌细胞呈梭形，无横纹。细胞中含有肌质网以及由肌球蛋白组成的粗肌丝和由肌动蛋白组成的细肌丝，肌丝排列的方向与细胞长轴一致。在显微镜下可看出，细肌丝末端结合在一个特殊结构上，此结构称为致密小体（dense body）。致密小体有的存在于肌质中，有的结合在肌膜上，此结构和功能上相当于横纹肌的 Z 线。因此，平滑肌细胞只含有一个肌节单位。平滑肌中细肌丝和粗肌丝的比例数与横纹肌中的不同，后者为 2∶1，而前者为十几条比 1。

平滑肌中所含的肌动蛋白在氨基酸顺序上与横纹肌和心肌中的略有不同，但在功能上无明显差别。平滑肌的肌球蛋白与横纹肌的极为相似，亦具有 ATP 酶活性，但活性较低，只相当于横纹肌肌球蛋白的 1/10。平滑肌肌球蛋白亦是由 6 条肽链组成，2 条重链，4 条轻链。按相对分子质量不同轻链又可分为 17kDa 轻链（LC17）和 20kDa 轻链（LC20）2 种，每种各 2 条。平滑肌细胞中亦含有肌球蛋白，参加了细肌丝的组成。平滑肌不含有肌钙蛋白，而含有在结构和功能上与肌钙蛋白极为相似的钙调蛋白（calmodulin，CaM）。

平滑肌的收缩机制与横纹肌基本相似，也是由于两种肌丝相互滑动引起肌肉收缩（图 9－40）。可是，平滑肌的收缩速度要比横纹肌的慢，从收缩到松弛，前者需要 0.2～40s，而后者只需 0.04～0.1s。平滑肌收缩的持久性要大于横纹肌。平滑肌收缩的生化过程却与横纹肌的有所不同。Sobiezek（1977）首先提出了磷酸化学说，认为平滑肌收缩是通过肌球蛋白的磷酸化和去磷酸化来调节。肌球蛋白磷酸化，其肌球蛋白

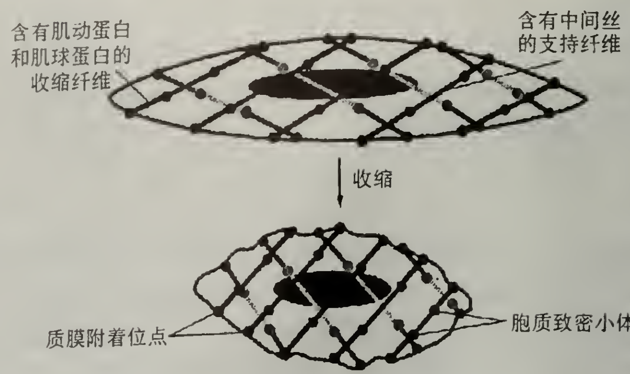


图 9－40　平滑肌细胞的收缩机制图解

Mg^{2+}－ATP 酶活性即被肌动蛋白所激活，两种肌丝迅速发生横桥循环，导致肌肉收缩。平滑肌收缩最初也是从肌质中 Ca^{2+}浓度提高起始的，当 Ca^{2+}浓度从 10^{-7} 升高到 10^{-5}mol/L 时，Ca^{2+}即和钙调蛋白结合，引起钙调蛋白发生构象变化，从而使钙调蛋白得以和肌球蛋白轻链激酶相互作用，激活细肌丝上的轻链激酶，导致肌球蛋白磷酸化，发生横桥循环。平滑肌收缩过程大体上可分为如下步骤(图 9－41)：



图 9－41　钙离子对平滑肌收缩的调控作用机制

在钙离子存在时，肌球蛋白轻链激酶催化肌球蛋白两条轻链中的 t 一条轻链的一特定位点发生磷酸化，从而引起平滑肌收缩。非肌肉细胞中的肌球蛋白分子也受相同的机制调控(自 Alberts　1994)

(1) 肌细胞兴奋(来自自主神经冲动或激素刺激)，肌质[Ca^{2+}]升高。

(2) 形成 Ca^{2+}－钙调蛋白复合物，钙调蛋白(CaM)分子发生构象变化。

(3) 由于 Ca^{2+}引起 CaM 发生构象变化，CaM 和无活性的脱辅基肌球蛋白轻链激酶(MLCK)相互作用，形成有活性的 Ca^{2+}·CaM·MLCK 三合一复合物。

(4) 具有活性的激酶催化肌球蛋白的 2 个 20kDa 轻链 (LC20) (亦称可调轻链) 使其第 19 位的丝氨酸磷酸化。

(5) 磷酸化反应引起肌球蛋白分子构象发生变化，从而使其肌球蛋白 Mg^{2+}－ATP 酶为肌动蛋白所激活，增强了横桥循环速率。

(6) 肌质网回收 Ca^{2+}。

三、非肌细胞中微丝

在各种非肌肉细胞中，也存在有纤丝，其中最明显的就是微丝。微丝是纤丝中最细

的一类,直径为 6~7nm,长度不定,由肌动蛋白组成,故又名肌动蛋白丝。微丝普遍存在于各种真核细胞中,大量分布在质膜下方的外质(ectoplasm)中,以及细胞与细胞之间、细胞与固体间质相临接触的部位。紧临质膜下方的微丝平行排列成束,这种微丝束即所谓的应力纤维(stress fiber)。首先我们来介绍一下微丝的分子特性。

(一)微丝的组成

构成微丝的主要蛋白质成分为肌动蛋白(actin),大小为 43kDa,外观呈哑铃形。到目前为止,在哺乳动物和鸟类中已发现了 6 种肌动蛋白,其中 4 种称为 α 肌动蛋白,分别为横纹肌、心肌、血管平滑肌和肠道平滑肌所特有;另 2 种为 β 肌动蛋白和 γ 肌动蛋白,普遍存在于所有真核细胞中。这些类型的肌动蛋白在进化上非常保守,系由同一祖先基因进化而来。

(二)微丝的装配

微丝由肌动蛋白组装而成,丝状微丝叫 F 肌动蛋白,球状肌动蛋白单体叫 G 肌动蛋白。G 肌动蛋白具有极性,因此,由其头尾相连所装配成的 F 肌动蛋白也具有极性,微丝是由一条 F 肌动蛋白形成的右手螺旋。

在装配时,由于微丝具有极性,因此、新的肌动蛋白单体加到微丝两端的速度不同,速度快的一极为"+"极,速度慢的一极为"-"极。在一定条件下,微丝表现为一端因加上了肌动蛋白单体而延长,另一端因肌动蛋白单体脱落而缩短,也形成一种踏车现象(tread milling)(图 9-42)。

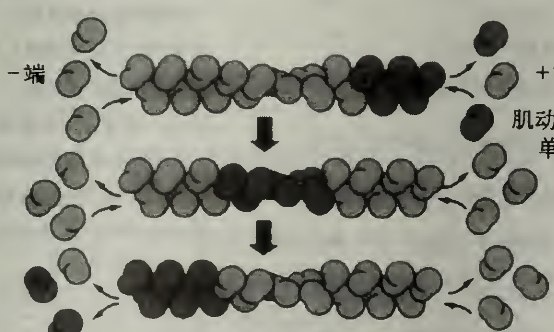


图 9-42　肌动蛋白丝的踏车式装配方式示意图

丝的(+)端因肌动蛋白单体向末端聚合较快而不断延伸,(-)端则解装配较快而不断缩短,只要丝两端的肌动蛋白单体保持在一定浓度条件下,两端的变化处于动态平衡之中,使丝的长度保持恒定。因而丝中的肌动蛋白单体不断由(+)端向(-)端迁移,图中标'*'号的单体是为了标示由(+)向(-)的移动变化

在真核生物体内,有些微丝为永久性结构(如微绒毛中),有些微丝则为暂时性结构(如胞质分裂环),但在大多数非肌肉细胞中,微丝则为一种动态结构,它不停地进行组装和解聚,以达到维持细胞形态和细胞运动的目的(文后彩图 9-43)。

微丝的装配在体外(in vitro)受 ATP、Ca^{2+}、Na^{+}和 K^{+}浓度的影响。在含有 ATP 和 Ca^{2+}以及低 Na^{+}、K^{+}的溶液中,微丝趋于解聚而形成肌动蛋白单体;而在 Mg^{2+}和高浓

度的 Na^+ 和 K^+ 的溶液中，肌动蛋白单体则装配成微丝。

微丝在体内(in vivo)的装配则要受到以下三方面因素的影响：①游离肌动蛋白单体的浓度；②微丝交织成网的程度；③微丝结合蛋白的调节。

(三)非肌肉细胞中的微丝结合蛋白

不同的微丝具有不同的微丝结合蛋白，以形成特定的结构并完成特定的功能。非肌肉细胞中的微丝结合蛋白与肌肉细胞中的差异较大。非肌肉细胞中的微丝结合蛋白主要与微丝的装配及功能密切相关。根据其功能可分为以下三类(表 9－1)：

表 9－1　肌动蛋白结合蛋白的种类及其功能

类别	名称	大小(kDa)	功能
横连蛋白(cross-linking protein)	毛缘蛋白(fimbrin)		将平行微丝横向连接成束
	束捆蛋白(fascin)		将平行微丝横向连接成束
	细丝蛋白(filamin)	250×2	使微丝成束或网；介导微丝连接到质膜上
	肌球蛋白I(myosin I)	130	与肌动蛋白结合可引起非肌肉细胞收缩；与血影蛋白一起可将微丝束连接至微绒毛膜上；介导细胞变形、运动和胞内物质运输
	肌球蛋白 II(myosin II)	480	
	血影蛋白(spectrin)		在红血细胞中与微丝相连成网；与肌球蛋白一起可将微丝束连接至微绒毛膜上
	110kDa 蛋白	110	将微丝束连接至微绒毛膜上
	黏着斑蛋白(vinculin)	130	将微丝连接到质膜上
	α辅肌动蛋白(α-actinin)	190	黏接多条微丝的端点，将平行微丝连接成束；并介导微丝连接到质膜上
	踝蛋白(talin)		介导微丝连接到质膜上形成黏着斑
	张力蛋白(tensin)		维持微丝锚着点的张力
戴帽蛋白(Capping protein)	凝溶胶蛋白(gelsolin)	91	高 Ca^{2+} 浓度下可断解微丝，调控微丝长度，使肌动蛋白由凝胶向溶胶状态转化
	片段化蛋白(fragmin)	42	高 Ca^{2+} 浓度下可断解长微丝
	绒毛蛋白(villin)	95	高 Ca^{2+} 浓度下可断解微丝，并结合断丝的端点上以阻止其装配
	Acumentin		结合到微丝的－极，阻止 G 肌动蛋白的添加
单体稳定蛋白(monomer stablizing protein)	促聚蛋白(profilin)	16	结合到 G 肌动蛋白单体上，促进微丝的装配
	胸腺素(thymosin)	5	抑制 G 肌动蛋白的聚合
	DNA 聚合酶 I(DNA Pol I)	109	与 G 肌动蛋白有高亲合性，可抑制微丝的装配(大量 G 肌动蛋白存在时不表现活性)
	钙调结合蛋白(caldesmon)		与肌动蛋白结合后可抑制肌动蛋白同肌球蛋白的结合(类似于骨骼肌中肌钙蛋白)

1. 横连蛋白(cross-linking protein)

这类蛋白质分子具有两个和多个肌动蛋白结合位点，故能同时结合多条肌动蛋白丝，将多条肌动蛋白丝横连成束。属于此类的有 α 辅肌动蛋白(α-actinin)、细丝蛋白(filamin)、毛缘蛋白(fimbrin)、血影蛋白(spectrin)、黏着斑蛋白(vinculin)和踝蛋白(talin)等。

2. 戴帽蛋白(capping protein)

这类蛋白质分子能结合到肌动蛋白丝的一端，对肌动蛋白丝的长度和装卸具有调节作用。属于此类的有凝溶胶蛋白 (gelsolin)、片段化蛋白 (fragmin) 和微绒毛蛋白 (villin)

3. 单体稳定蛋白(monomer stablizing protein)

这类蛋白质分子能与肌动蛋白单体结合，具有抑制 G 肌动蛋白装配成 F 肌动蛋白、进而调节 G 肌动蛋白和 F 肌动蛋白之间的动态平衡的作用。属于此类的有促聚蛋白(profilin)等(图 9－44)。

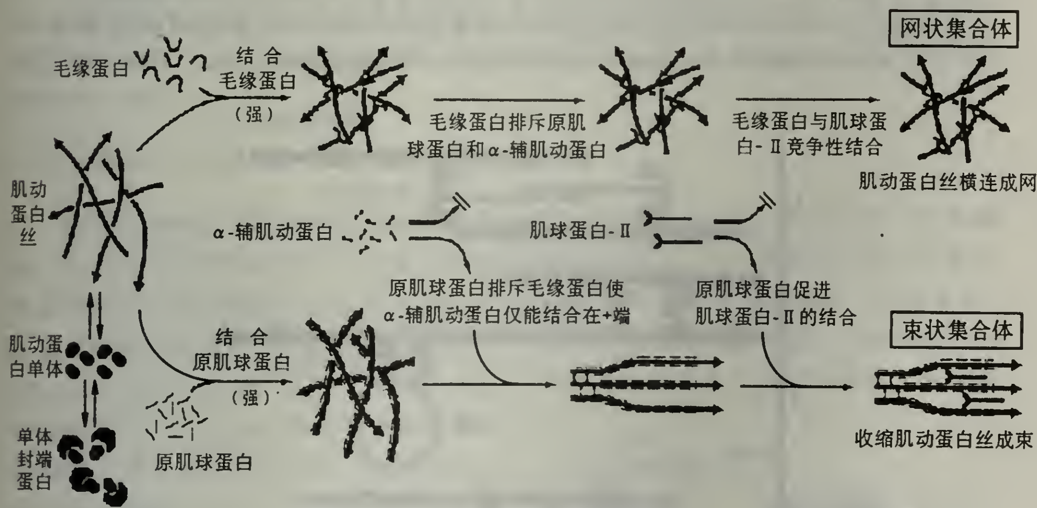


图 9－44　各类肌动蛋白结合蛋白的功能图解

非肌细胞中的肌动蛋白丝存在于胞质的外质中。非肌细胞的收缩活动除有肌动蛋白丝参与外，还需要有肌球蛋白和其他一些蛋白的参加，也可形成肌动球蛋白复合物(actomyosin complex)(图 9－45)。该复合物在有 Mg^{2+}、Ca^{2+}和 ATP 存在时，可发生收缩(机制似平滑肌细胞)(图 9－46)。最近的研究结果表明，肌球蛋白在参与膜泡运输、细胞运动和信号传导方面均具有重要的生物学功能。

(四)微丝的特异性药物

有些药物对微丝具有特异性作用，或专一性地破坏微丝、抑制微丝组装，或抑制微丝解聚、稳定微丝。微丝的特异性药物主要有细胞松弛素和鬼笔环肽等。

1. 细胞松弛素(cytochalasin)

细胞松弛素为真菌的一种代谢产物，能特异性地破坏微丝(图 9-47)。细胞松弛素有很多种，其中细胞松弛素 B 和细胞松弛素 D 的毒性和作用强度最好，因而最为常用。其机制是通过切断微丝并结合在微丝的正端，抑制其组装，从而导致微丝解聚。它是微丝的特异性抑制剂，因而常常被用来研究细胞内微丝的功能。

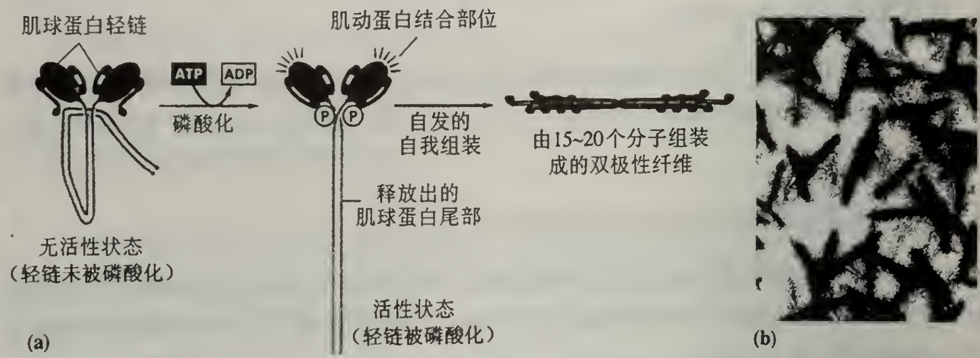


图 9 - 45　非肌肉细胞中肌球蛋白分子的组装机制及其双极性纤维的电镜图像

(a)肌球蛋白分子的轻链被磷酸化后，便从无活性时的折叠状态伸展开来，从而自发地进行自我组装，形成双极性纤维；(b) 非肌肉细胞中所分离出的双极性纤维的电镜图像(自 Alberts　1994)

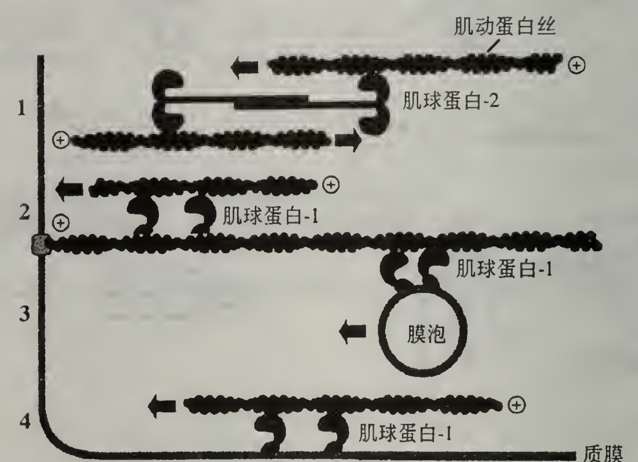


图 9 - 46　非肌细胞中肌球蛋白与肌动蛋白分子的作用方式图解

在非肌肉细胞中，肌球蛋白与肌动蛋白的作用方式有四种：1. 肌球蛋白 - 2 分子形成的双极性集合体在两游离肌动蛋白丝之间发生相互滑动；2. 肌球蛋白 - 1 分子的尾部结合在固定在质膜上的肌动蛋白丝上，头部可消耗 ATP 与另一极性相反的游离肌动蛋白丝作用，使二丝之间发生相互滑动；3. 尾部结合膜泡上的肌球蛋白 - 1 分子，通过与固定在质膜上的肌动蛋白丝发生作用可使膜泡沿肌动蛋白丝进行运输；4. 尾部结合在质膜上的肌球蛋白 - 1 分子可使游离肌动蛋白丝沿质膜运动(仿 Alberts　1994)

2. 鬼笔环肽(philloidin)

鬼笔环肽是一种毒蕈(*Amanita phalodies*)产生的双环杆肽，与微丝具有强烈的亲合作用，可紧密地结合在微丝上，因而能抑制微丝的解聚从而稳定微丝。鬼笔环肽只与F肌动蛋白结合，而不同 G 肌动蛋白结合，因此常常被用来研究细胞内微丝的分布。

(五)微丝的功能

在微丝结合蛋白的协助下，微丝在真核细胞中形成了广泛存在的骨架结构。与细胞许多重要的功能活动有关。

在许多细胞的质膜下方存在有一层特殊的细胞质,称为外质。外质中含有大量的肌动蛋白丝,这些微丝与质膜平行排列形成网络状结构并与质膜相连,这层特殊的细胞质称为胞质凝胶层。这层微丝网使质膜具有一定的强度和韧度,对于驱动胞质环流、维持细胞外形和细胞运动均具有重要意义。最近的研究发现,ρ-GTPase 为肌动蛋白骨架的关键性调控因子。ρ-GTPase 通过与多种靶蛋白相互作用,对基因表达和黏着等其他细胞活动的协调控制具有决定作用。

1. 维持细胞外形

细胞形状的维持除与微管有关外,微丝也起着重要作用。微丝的收缩活动同样能改变细胞的形状。动物胚胎在其形态发生过程中,有些细胞的形状会发生改变。例如,在神经板发育成神经沟时,神经板的细胞变长,且远端变细,使神经板卷曲成神经沟。经研究发现,在要发生这种变化的细胞中,其远端有微丝束形成的环。在胞质中肌球蛋白的存在下,该环状微丝束收缩,使细胞的远端变细。而细胞的拉长则与微管有关(图 9-48)。

2. 胞质环流(cyclosis)

如在植物细胞中所普遍存在的胞质环流现象,即与微丝有关。这方面的工作在丽藻(*Nitalla*)中研究得较多。在丽藻中央液泡周围的原生质,分为外质和内质。外质中静止排列有一层叶绿体;而内质为溶胶状态,含有的许多颗粒随内胞质一起沿着内、外质之间的界面流动,称为胞质环流(图 9-49)。胞质环流速度很快,有的细胞可达 80μm/s。经研究发现,在外质靠近内质的一侧存在有大量平行于胞质环流方向排列的微丝束,束长 0.2μm,每束约有 50~100 根微丝。而在内质中含有许多肌球蛋白,同在肌肉细胞一样,它可与肌动蛋白结合形成肌动球蛋白,产生推动胞质流动的动力。但在静止的外质中同样也分布有微

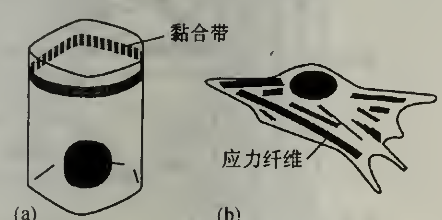


图 9-48 微丝与细胞形状的维持图解
(a)上皮样细胞的顶部存在有成束的黏合带,其收缩可使细胞顶端变细,从而使整个上皮层发生弯曲,形成沟状或管状;(b)成纤维样细胞中也存在有成束分布的微丝,其收缩或拉长可使细胞变短或变长

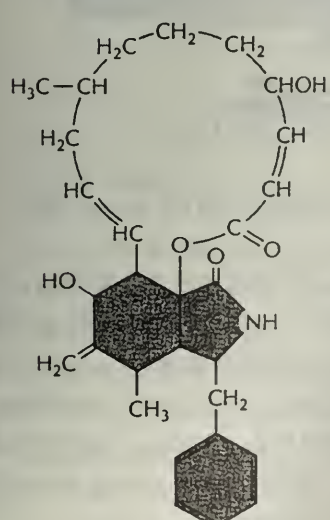


图 9-47 细胞松弛素 B 的分子结构式

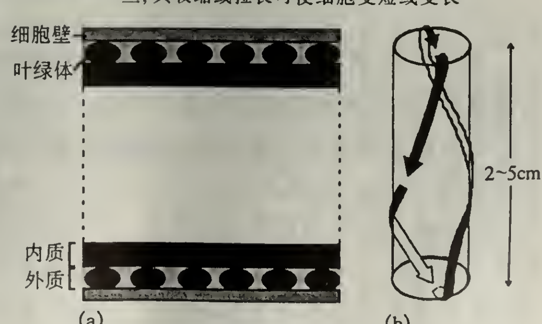


图 9-49 植物细胞中胞质环流的模式图解
(a)植物细胞的胞质分层;(b)胞质环流的方向

管。胞质环流究竟是由微丝还是由微管驱动的，还是二者共同驱动的呢？为了验证这一点，有的学者用细胞松弛素 B 处理丽藻，发现在 1h 内胞质环流便停止；当洗去细胞松弛素 B 后，胞质又恢复了环流。而用秋水仙素处理时，胞质环流不受影响。从而证明微丝确实是胞质环流的必需成分，而不是微管。

3. 变形运动(amoeboid movement)

许多动物细胞在进行位置移动时多采用变形运动的方式。如原生动物的变形虫、高等动物的巨噬细胞和白细胞以及器官发生时的胚胎细胞等，均可进行变形运动。在这些细胞的静止外质中含有丰富的微丝，细胞的变形运动与外质中 F 肌动蛋白的凝胶和溶胶状态之间的相互转变有关。

关于变形运动的机制，R. Allen 提出了前端收缩学说，他认为，变形运动的动力是由细胞伪足顶端附近原生质的收缩产生的。细胞顶端的外质由凝胶状态变为溶胶状态，在支持物上自然向前铺展，随后外质又由溶胶状态变为凝胶状态，从而产生收缩力，牵引着内质向前移动；同时，在细胞的后端发生了相反的变化过程，即外质由溶胶状态变为凝胶状态，靠前端的收缩牵引而向前移动。如此反复，在黏着区靠脱离和附着而逐渐前移的同时，整个细胞向前移动(图 9 – 50)。

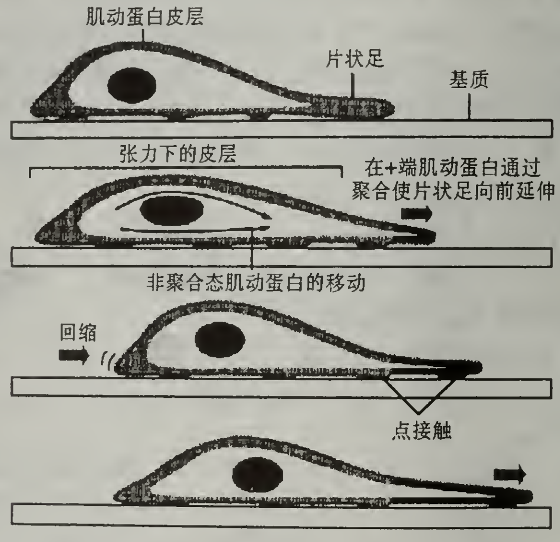


图 9 – 50　富含肌动蛋白的皮层为细胞变形运动提供动力的模式图解(自 Alberts 1994)

近年来的研究表明，肌动蛋白的凝胶和溶胶状态之间的相互转变除要受到 Ca^{2+} 的调节外，还与两种微丝结合蛋白有关。一种是细丝蛋白(filamin)，属横连蛋白，可将外质中的微丝连接成立体网架，使外质呈凝胶状态；另一种是凝溶胶蛋白(gelsolin)，属戴帽蛋白，当 Ca^{2+} 浓度大于 1×10^{-6} 时，可与外质中的微丝结合使之断解成短的微丝，并结合在断丝的顶端而阻止其组装，从而使微丝立体网架的黏度下降，由凝胶变为溶胶状态。同时，Ca^{2+} 浓度的上升又激活了肌球蛋白分子，靠其头部的 ATP 酶活性牵引肌动蛋白与其发生相互滑动，进而产生胞质流动的动力，使细胞发生变形运动。

此外，在细胞的片足运动和吞噬作用中，也是通过肌动蛋白溶胶与凝胶状态的相互转化来完成的。

4. 支持微绒毛

在肠上皮细胞表面伸出了大量的微绒毛，微绒毛形成与维持对扩大小肠的表面积、增强消化和吸收功能具有重要意义。微绒毛是由微丝形成的包有一层质膜的指状突起。在微绒毛中，由微丝形成的微丝束构成了微绒毛的骨架，另外还含有一些微丝结合蛋白，在调节微绒毛长度和保持其形状方面具有重要作用。其中，毛缘蛋白(fimbrin)在微丝束的形成中起作用。绒毛蛋白(villin)的作用受 Ca^{2+}浓度的调节，在低 Ca^{2+}浓度下绒毛蛋白可使微丝聚集成束，而在高 Ca^{2+}浓度下又能使微丝断解，可见，Ca^{2+}浓度对微丝束的长度具有调节作用。110kDa 蛋白可将微丝束连接至微绒毛膜上，在微绒毛的维持上具有重要作用。肌球蛋白 1(myosin 1)(似肌球蛋白 2)和钙调蛋白(calmodulin)一起，在微丝束的侧面与细胞膜之间形成横桥连接，肌球蛋白 1 的 ATP 酶活性使这些横桥能产生一种张力，该张力在保持微丝束在微绒毛中处于中心位置以使微绒毛发生弯曲等方面具有关键作用。血影蛋白 (spectrin)可结合到微丝的侧面，经过横桥把相临微丝束连接在一起，同时也能在微丝和细胞膜之间形成侧向连接(图 9－51)。

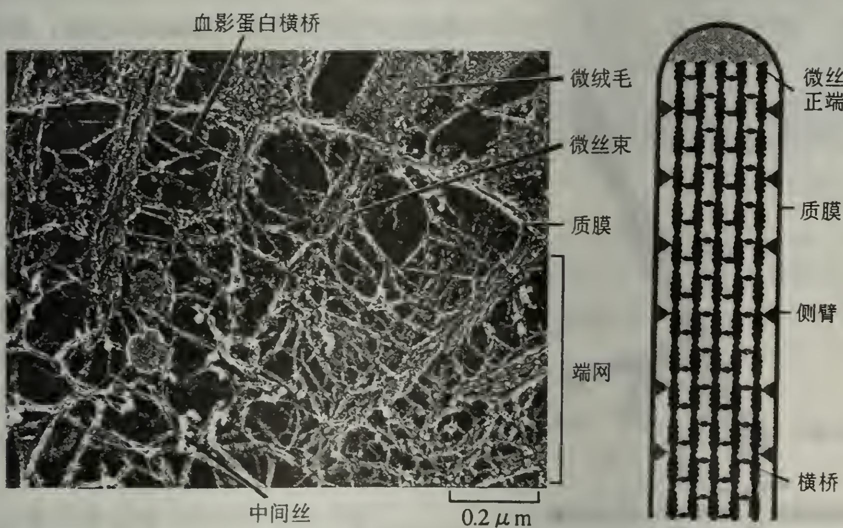


图 9－51　小肠上皮细胞微绒毛的冰冻蚀刻照片及其结构图解

5. 形成应力纤维(stress fiber)

应力纤维也是在细胞内由微丝束构成的较为稳定的纤维状结构(图 9-52a)。应力纤维是一类长而直的纤维，常常与细胞的长轴大致平行并贯穿细胞的全长。应力纤维由大量平行的微丝束构成，这些微丝束具有极性，一端与质膜特定部位的点状接触(focal contacts)相连(此处质膜的外表面与细胞外基质紧密接触)，另一端则插入到细胞质中的另一个点状接触或与中间丝结合。此外，在应力纤维中也存在有多种微丝结合蛋白，如 α 辅肌动蛋白(α-actinin)、肌球蛋白(myosin)、原肌球蛋白(tropomyosin)和钙调结合蛋白等。其中，钙调结合蛋白类似于肌原纤维中的肌钙蛋白。这些微丝结合蛋白在应力纤维中呈周期性分布(图 9－52b)。因此，应力纤维在结构与组织形式上与肌原纤维非常相似。

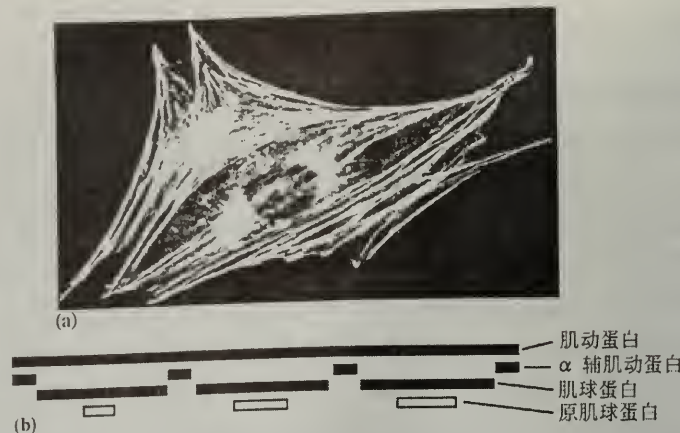


图 9－52 人皮肤成纤维细胞中应力纤维的免疫荧光照片及其结构模式图解
(a)免疫荧光图片;(b)结构模式图

应力纤维在胞质中通过与肌球蛋白分子的相互作用也具有收缩功能，其收缩为发生在附着点之间的等位收缩，因而不能产生运动，而只能用于维持细胞的形状和赋予细胞以韧性和强度。此外，应力纤维通过参与黏合带（adhesion belt）和黏着斑（adhesion plaque）的形成，在细胞与细胞之间、细胞与基膜之间的连接中也具有重要作用。黏着斑的黏着作用是通过应力纤维、整联蛋白(integrin)和纤黏连蛋白(fibronectin)的相互作用来实现细胞与细胞外基质之间的连接作用的。在张力纤维与一体蛋白的连接中，还有 α 辅肌动蛋白（α-actinin）、黏着斑蛋白（vinculin）踝蛋白（talin）和桩蛋白(paxillin)的参与(图 9－53)。

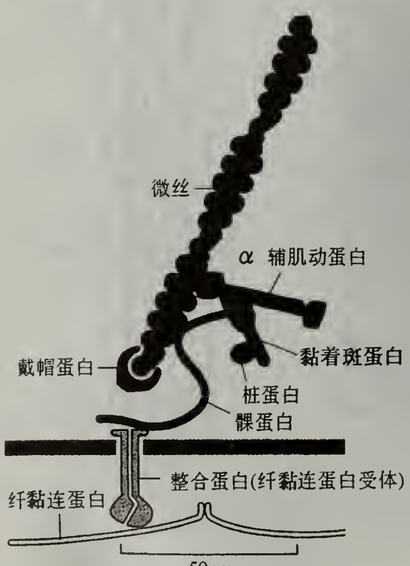


图 9－53 黏着斑结构的模式图解
（自 Alberts 1994）

6. *胞质分裂*(cytokinesis)

在有丝分裂末期，核分裂完成后，在即将分离的 2 个子细胞之间由微丝形成了一个收缩环(contractile ring)。收缩环的形成部位为赤道面，由胞质中的肌动蛋白组装成的微丝平行排列而成(图 9－54)。收缩环是在胞质分裂开始时临时形成、分裂结束后很快便消失的一种暂时性结构，该过程十分快速，形成与消失所需时间均为 1min 左右。

收缩环由大量平行排列的微丝组成，这些微丝具有不同的极性。通过肌动蛋白与肌球蛋白分子的相互作用产生收缩环收缩的动力，在肌球蛋白的作用下，不同极性的微丝之间发生相对滑动，使收缩环收缩。在赤道面上的收缩环又借助于 α 辅肌动蛋白等

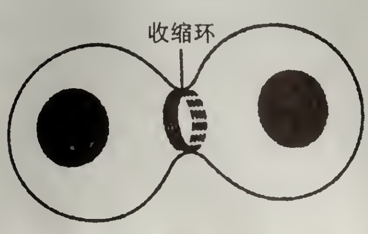


图 9－54 收缩环的模式图解

与其外的质膜相连，因此，其逐渐收缩，可形成分裂沟，使细胞一分为二。

7. 肌肉收缩

在肌肉细胞中，由肌动蛋白、原肌球蛋白和肌钙蛋白构成细肌丝。肌动蛋白主要以F肌动蛋白的形式存在，微丝与粗丝之间发生相互滑动，可引起肌肉收缩（详见粗丝部分）。

四、中间丝

除微丝和肌球蛋白丝外，在许多细胞中还含有一种粗细介于二者之间的另一种纤丝，这就是中间丝(intermediate filament)（图9-55）。中间丝是一类直径10nm的中空管状丝，故又名10nm丝，其功能主要与维持细胞外形和各种细胞器的位置有关。它不受细胞松弛素和秋水仙素的影响，因而在化学性质上与微丝和微管不同。中间丝的成分复杂，分布也具有高度的组织特异性。现已在神经细胞、上皮细胞、肌肉细胞、成纤维细胞和神经胶质细胞等中发现了中间丝的存在。

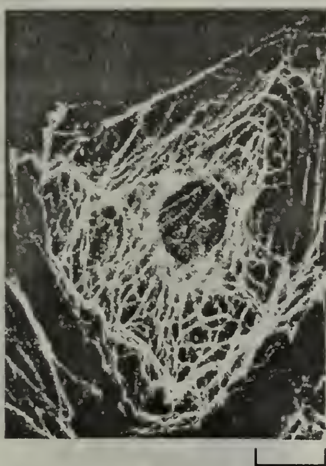


图9－55 鼠袋鼠(rat kangaroo)上皮细胞(PtK2)间期中的中间丝（角蛋白丝分布）用免疫荧光法显示（自Alberts et al. 1994）

（一）中间丝的类型

各种中间丝虽然在结构上非常相似，但其化学组成上却又有显著的差别。根据组织来源和免疫原性，可将中间丝分为角蛋白丝、波形蛋白丝、结蛋白丝、神经丝、神经胶质丝和核纤层蛋白丝若干类（表9－2）。

表9－2 各种中间丝的类型、性质及其分布

中间丝的类型	基本构件分子	结构分子种类	相对分子质量(*M*r)(kDa)	存在的细胞种类
角蛋白丝	角质纤维蛋白(cytokeratin)	1	40～68	各种上皮细胞
波形蛋白丝	波形纤维蛋白(vimentin)	1	54	间质细胞和中胚层来源的细胞，如成纤维细胞和软骨细胞等；体外培养细胞
结蛋白丝	结蛋白(desmin)	1	53	各种肌肉细胞
神经丝	神经丝蛋白(neurofilament protein)	3	68～200	神经元
神经胶质丝	胶质纤维酸性蛋白(glial fibril acidic protein)	1	51	神经胶质细胞、星形细胞
核纤层蛋白丝	核纤层蛋白(lamin)	3	65～75	真核细胞核的核纤层

(二)中间丝的结构

中间丝蛋白来源于同一基因家族, 具有高度同源性。中间丝蛋白在结构上非常相似, 一般可分为头部、杆部和尾部 3 个部分 (图 9-56)。①杆部: 杆部中有一段高度保守、约 310 个氨基酸的 α 螺旋区,两个相邻亚基所对应的 α 螺旋区形成双股超螺旋。具体来说,4 个螺旋区间通过 3 个短片段连接在一起。②头尾部: 头部位于 N- 端,尾部位于 C- 端, 均为非螺旋结构、可进一步分为同源区、可变区和末端区。中间丝蛋白分子量的大小主要取决于尾部的变化。最近还鉴定出了一类横连结合蛋白,可介导中间丝与其他细胞骨架网络之间的相互作用。

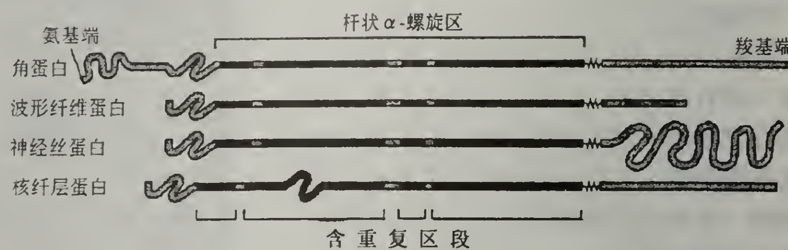


图 9-56　中间丝蛋白单体功能区的组成图解(自 Alberts　1994)

(三)中间丝的装配

由于中间丝由纤维状蛋白构成的八聚体原丝所组装成的复杂中空管状结构 (图 9-57),因此其装配过程比仅由球形单体蛋白构成的微管和微丝的要复杂得多。中间丝的装配分 4 步:

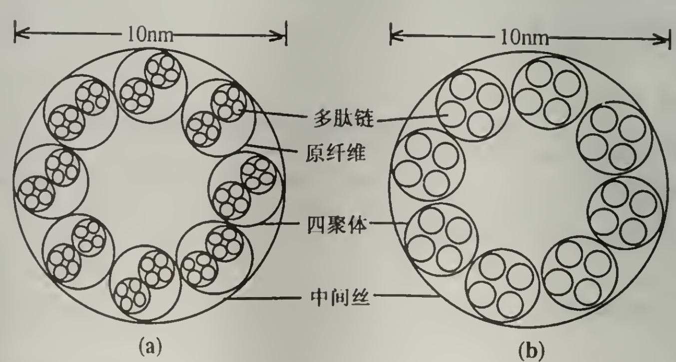


图 9－57　中间丝结构的两种横切面模式图

(a) 4 条多肽链构成四聚体, 2 个四聚体交错排列成八聚体的原纤 8 条原纤维紧密排列并卷成中空的中间丝;
(b) 8 个由 4 条多肽链构成的四聚体直接盘绕形成中空的中间丝

①两个相邻亚基所对应的 α 螺旋区形成双股超螺旋即二聚体;②由二聚体组装成四聚体; ③ 由四聚体组装成八聚体原丝; ④由八聚体原丝组装成中空管状中间丝 (图 9－58)。

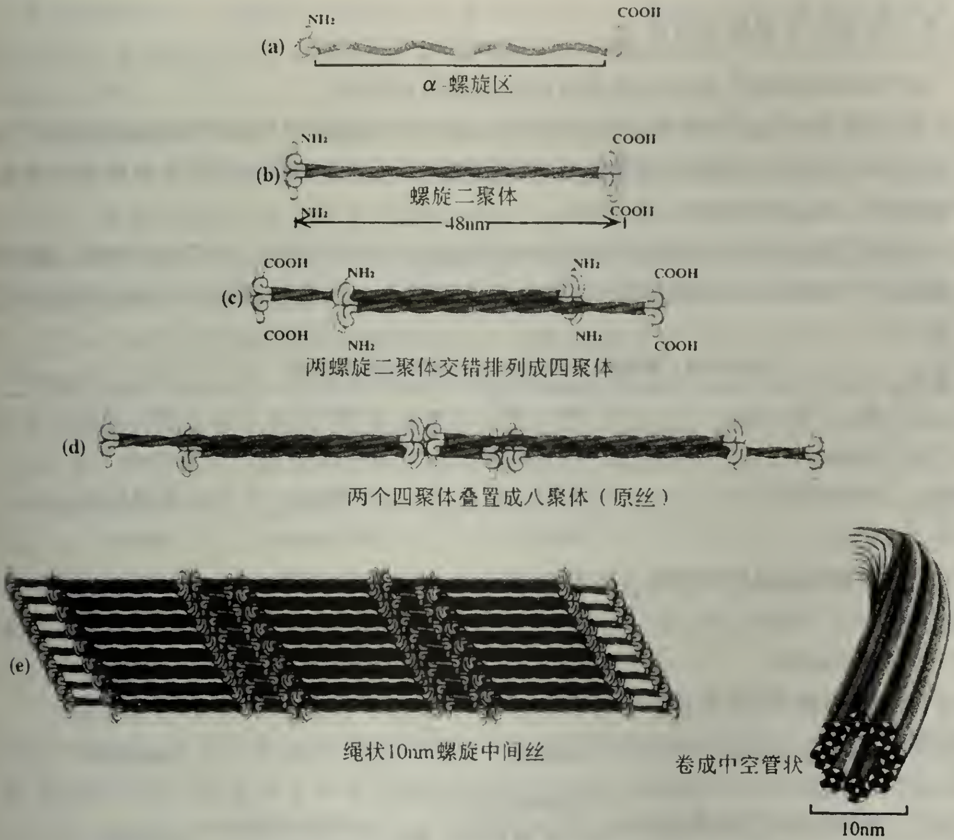


图 9－58　中间丝的装配过程示意图(自 Alberts　1994)

(a)中间丝蛋白单体;(b)相同单体形成二体;(c)二体并列成四体;(d)四体中二体彼此交错排列;
(e)若干四体纽缠为杆状的 10nm 中间丝

(四)中间丝的功能

中间丝在胞质中形成精细发达的纤维网络，外与细胞膜及细胞外基质相连，中间与微管、微丝和细胞器相连,内与细胞核内的核纤层相连,因此,中间丝也具有多种功能。但由于到目前为止还没有找到其特异性的工具药物，因此对其功能还了解甚少。但一般认为,中间丝具有如下功能:

1. 增强细胞机械应力

中间丝的主要功能是支持细胞对抗机械力，这一功能对表皮细胞来说特别重要。例如,有一种称为大泡性表皮松解症(epidermolysis bullosa simplex)的遗传病,即是由于角蛋白基因发生突变造成的。病人表皮基底细胞中的角蛋白丝网受到破坏,使皮肤很容易受到机械损伤,轻轻一碰即可使皮肤松解脱落。

2. 保持细胞的整体性

中间丝在从细胞核到细胞膜和细胞外基质的贯穿整个细胞的结构系统中起着广泛的骨架功能,该骨架具有一定的可塑性,对维持细胞质的整体结构和细胞机械强度有重要作用。

3. 参与桥粒和半桥粒的形成

参与相邻细胞间、细胞与基膜间的连接结构的形成。

由于在不同组织中的中间丝类型不同，即在不同组织中均有中间丝蛋白的特异性表达，表明中间丝与细胞分化可能具有密切的关系，各种中间丝可能具有特殊的功能，对其详细了解还有待于进一步研究。

上面已系统介绍了细胞骨架的基本结构及其生物学功能。为了便于理解，现将其各种成分主要特征及它们之间的主要差异总结成表 9-3。微管、微丝和中间丝共同构成

表 9－3　微管和三种纤丝的主要特征及其差异

主要特征	微　管	微　丝	中间丝	粗　丝
直径	25nm	6～7nm	10nm	15nm
基本构件分子	α,β 微管蛋白	肌动蛋白	中间丝蛋白	肌球蛋白
构件分子大小	50kDa	43kDa	40～200kDa	480kDa
结　构	13 根原丝围成的中空管状	单股 α 螺旋	多级 α 螺旋	双极性分子集合体
极　性	有	有	无	有
装配方式	踏车运动式	踏车运动式	逐级装配、极性聚合	
特异性药物	秋水仙素、鬼臼素等	细胞松弛素等	无	无
运动相关的主要结合蛋白	动力蛋白、驱动蛋白	肌球蛋白	无	肌动蛋白
主要功能	细胞运动、支持作用、胞内运输	形状维持、变形运动、胞质环流、细胞连接	骨架作用、细胞连接、信息传递	肌肉收缩

了细胞内精密的骨架体系，三者在细胞的各种生命活动中既相互配合又各有分工，但它们在结构上又是如何相互连结形成一个有机整体的呢？关于这个问题，E. Fuchs (1998) 根据自己的实验结果提出了一个结构模型，认为网蛋白 (plectin) 在介导微管、微丝和中间丝之间的连接中具有结构性功能(图 9-59)。

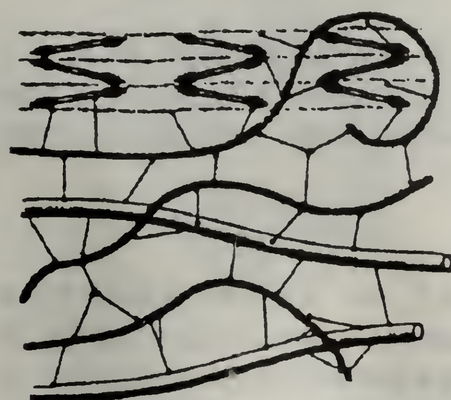


图 9－59　网蛋白在介导微管、微丝和中间丝连接中的作用图解

广义细胞骨架除包括细胞质骨架外，还应包括细胞膜骨架、细胞外基质和细胞核骨架。这些方面的内容可参阅第四章和第五章细胞膜骨架和细胞外基质有关节段；关于细胞核骨架，见第十二章。

提　要

从广义上讲，真核细胞中，与细胞运动保持细胞形状有关的一些纤维状结构称为细胞骨架。细胞骨架应包括细胞质

骨架、细胞核骨架、细胞膜骨架和细胞外基质四个部分；从狭义上讲，细胞骨架即为细胞质骨架。根据结构不同，细胞质骨架包括微管和纤丝，而纤丝又可分为微丝、中间丝和粗丝三种。

微管是细胞质骨架中最粗的一种，为中空管状结构，直径25nm，长度不定。管壁由13条原丝平行排列围成。原丝是由α微管蛋白和β微管蛋白异二聚体亚单位串联成的长链。微管表面结合有微管关联蛋白(MAP)，MAP有稳定微管的作用。不同细胞含有MAP的类别不同。其中，两种马达蛋白——动力蛋白和驱动蛋白在细胞器的定位及其迁移以及胞内物质运输中具有重要作用。微管具有自我装配的特性，而且具有极性，其(+)端异二聚体的装配速率要大于(-)端，装配方式为踏车运动式；另外，微管在细胞内的装配又是从一定部位开始的，此装配起始部位称为微管组织中心。微管的特异性抑制药物为秋水仙素、长春花碱和美登本等，稳定药物为紫杉酚、重水和nocodazole等。分散存在的微管的主要功能与细胞运动、胞内物质运输、保持细胞形状、植物细胞壁的形成等有关。细胞中有的细胞器是由微管组成的，如中心粒、纤毛、纺锤体等。

中心体是动物细胞所特有的细胞器，为在核附近由1对垂直排列的中心粒组成。每一中心粒是由9组三联体微管围成的筒状结构，且中心粒具有自我装配的能力。中心粒的主要功能是组织形成纺锤丝、纤毛和鞭毛。

纤毛(鞭毛)的轴丝是由微管组成的，轴心有2条中央微管，周围为9组二联丝。每组二联丝由A、B两条亚丝(微管)组成。在纤毛基部细胞质中有一中心粒，称为基体，轴丝的9组二联丝的A、B亚丝即是由基体的9组三联丝的A、B管延伸出来的。轴丝中除了构成微管和微管蛋白以外，还有几种MAP对稳定轴丝的结构起着重要作用，如动力蛋白(dynein)、连结蛋白(nexin)、辐头蛋白等。纤毛和鞭毛是重要的运动细胞器，其鞭击摆动是通过外周二联丝发生结合与中央鞘之间的相对滑动实现的。外周二联丝上的动力蛋白臂与相近邻的二联丝发生结合与分离和循环变化，辐头和中央鞘之间也有周期性的相互作用，这些变化迫使纤毛发生规律性弯曲。纤毛运动的直接能源为ATP，动力蛋白和辐头蛋白均具有ATP酶活性。

细菌也具有能动的鞭毛。但细菌鞭毛在结构成分和运动机制上完全不同于真核细胞的鞭毛。细菌鞭毛是由鞭毛蛋白聚合成的蛋白质丝组成，其运动是由细胞膜中的一种盘状结构推动其旋转。细菌鞭毛旋转的直接能源为质子跨膜梯度。

在肌细胞中存在着由肌球蛋白组成的粗肌丝（直径15nm）和由肌动蛋白组成的细肌丝(直径6nm)，这两种纤丝同肌肉的收缩运动直接相关。肌球蛋白丝是由肌球蛋白分子单体聚集而成。肌球蛋白分子的球形头部具有ATP酶活性，可结合肌动蛋白，肌球蛋白单体以尾部相互结合，装配成了双极性的粗肌丝。肌动蛋白为球形蛋白，单体称为G肌动蛋白，由G肌动蛋白聚合成的长丝称为F肌动蛋白，2条F肌动蛋白相互缠绕形成双螺旋，再加上其他辅助蛋白构成了6nm粗的细肌丝，在骨骼肌中具有肌节结构，肌节的两端为Z盘(线)，肌节中的粗肌丝和细肌丝相间平行排列，每一肌节中的细肌丝端部结合在Z盘上。肌肉的收缩是由于肌动蛋白丝和肌球蛋白丝相互滑动造成的。在有一定浓度的Ca^{2+}和ATP存在时，肌球蛋白的头部可和肌动蛋白分离。ATP发生水解时，使头部发生构象变化，带有ADP的肌球蛋白头部便和肌动蛋白丝的一个新部位结合。许多肌球蛋白头部结合到1条肌动蛋白丝上，相互协同作用，而将肌动蛋白丝向着肌球蛋白丝的中部牵拉，造成每一肌节缩短，从而导致肌肉收缩。

肌肉收缩要受 Ca^{2+} 浓度的调节，当 Ca^{2+} 浓度不足时肌动蛋白丝上同肌球蛋白结合的部位被原肌球蛋白所掩盖，肌肉处于松弛状态。当动作电位从肌膜沿横小管系统(T系统)传至肌纤维深部，引起肌质网腔中的钙离子释放至肌浆中，钙离子同肌钙蛋白结合后，肌钙蛋白构象变化，使原肌球蛋白移位，暴露出肌动蛋白上的肌球蛋白结合部位，激活了肌球蛋白的 ATP 活性，肌球蛋白便和肌动蛋白相互作用，使两种肌丝相互滑动。

在非肌细胞中，F肌动蛋白和辅助蛋白构成了微丝。非肌细胞的运动，如胞质环流、变形运动等，均与肌球蛋白和肌动蛋白的相互作用有关。在胞质流动中即发现在溶胶样内质与凝胶样外质的界面处有肌动蛋白和肌球蛋白起作用。抑制肌动蛋白的聚合即可阻止胞质的流动。变形运动也是利用细胞质的溶胶－凝胶变化实现的。微丝之间通过肌动蛋白结合蛋白建立横向联系，促进了胞质凝胶化。如果使微丝解聚，则使变形运动受到抑制，但变形运动的精确机制尚不清楚。在动物细胞中，胞质分裂和由微丝组成的收缩环的收缩有关。

平滑肌和非肌细胞中的运动也是通过肌动蛋白丝与肌球蛋白的相互作用进行的，但引起相互滑动的机制不同于横纹肌。前二者的肌球蛋白头部 ATP 酶活性的激活是由于肌球蛋白轻链的磷酸化引起的。平滑肌和非肌细胞的运动亦受 Ca^{2+} 浓度的调节，Ca^{2+} 同钙调蛋白结合成的复合物可激活轻链激酶，从而引起轻链磷酸化。

真核细胞中尚存在着一类直径为 10nm 的纤丝，被称为 10nm 丝或中间丝。中间丝因其组成成分不同可分为若干种，如角蛋白丝、波形蛋白丝、结蛋白丝、神经蛋白丝、神经胶质蛋白丝和核纤层蛋白丝等。各种中间丝均系由某种单体聚合而成，但它与微管、微丝不同，其聚合形成是不可逆的。

复习思考题

1. 细胞骨架在细胞中仅仅起支持和形状维持功能吗？谈谈你对细胞骨架功能的认识。
2. 细胞内同时存在微管、微丝和中间丝等几种骨架体系，它们在细胞的生命活动中各承担了什么样的角色？其间又有何关系？
3. 微管是如何进行胞内细胞器的定位、迁移及胞内物质运输的？
4. 目前通常使用什么方法来研究细胞骨架的各种结构或组分？利用这些方法有何局限性？应如何解决？
5. 微管和微丝在细胞内一直处于动态装配过程中，它们的这种特性对细胞的生命活动有什么意义？在什么情况下会发生组装，而什么情况下会发生去组装呢？
6. 在肌肉细胞和非肌肉细胞中，肌动蛋白同肌球蛋白分子的作用方式有哪些？分别承担了什么功能？
7. 细胞内的马达蛋白——动力蛋白和驱动蛋白在胞内物质运输中的作用机制如何？二者之间是怎样相互配合的？
8. 肌动蛋白结合蛋白对微丝的结构的形成和维持以及其功能的发挥具有什么重要作用？

主要参考文献

何泽涌，1980. 肌动蛋白微丝与细胞膜－细胞的运动. 生物化学与生物物理学进展，1: 6～14; 2: 38～42; 3: 45～50; 4: 29～34

蒋传葵，1985. 动力蛋白的分子生物学与细胞运动. 生物化学与生物物理学进展，1: 31～37

潘玉芝,1981. 细胞骨架. 细胞生物学杂志, 2:5~8; 3:1~4
王建枝,1999. Tau 蛋白基因突变与神经退行性疾病. 生命的化学,19(6):288~290
汪堃仁,薛绍白,柳惠图. 1998. 细胞生物学. 北京:北京师范大学出版社,226~298
翟中和,1989. 细胞核骨架,细胞生物学进展(第一卷). 北京:高等教育出版社, 154~168
翟中和等,1995. 细胞生物学. 北京:高等教育出版社,239~265
郑国锠, 1992. 细胞生物学(第二版). 北京:高等教育出版社,309~342
Alberts, B. *et al.*, 1994. Molecular Biology of the Cell. 3rd ed. Garland Publishing, Inc., New York & London.
Alberts, B. *et al.* , 1998. Essential Cell Biology. Garland ublishing, Inc., New York & London, . 514~542
Avers, C. J. ,1986. Molecular Cell Biology. Addison-Wesley Publishing Company Inc. Massachusetts. 227~303
Ben-Zeev. 1985. Cytoskeleton in Cancer Cells. Biochemica et Biophyscia Acta. 780, 197~212
Clark, T. G., 1981. 细胞骨架与细胞运动. 生物科学动态, 5:22~36
Darnell, J. *et al.*,1995. Molecular Cell Biology. New York, Scientific American Books, Inc
De Robertis & De Robertis, 1980. Cell and Molecular Biology. Saunder College, Philadelphia
Dustin, p., 1984. Microtubules. Springer-Verlag, Berlin
Endow, S. A. & Waligora, K. M., 1998. Determinants of Kinesin Motor Polarity. Science, 281: 1200~1203
Fuchs, E. & Cleveland, D. W. , 1998. A Structural Scaffolding of Intermediate Filaments in Health and Disease. Science, 279:514~519
Hall, A. , 1998. Rho GTPases and the Actin Cytoskeleton. Science, 279: 509~514
Hirokawa, N. ,1998. Kinesin and Dynein Superfamily Proteins and the Mechanism of Organelle Transport. Science, 279: 519~526
Karp, G., 1984. Cell Biology, 2nd ed., McGraw-Hill Book Company, New York. 641~660
Kirschner, M. W.,1978. Microtubule Assembly and nucleation. International Review of Cytology, 54, 1
Mermall, V. *et al.* ,1998. Unconventional Myosins in Cell Movement, Membrane Traffic, and Signal Transduction. Science, 279: 527~533
Porter, K. R. & Tucker, J. B., 1981. 活细胞的支撑物质. 科学, 7:9~21
Satir, P.,1974. How Cilia Move. Scientific American, 231, 44
Seigh, M. A. & Bell, L. G., 1980. Cell Motility, from "Membrane Structure and Function", 3, 93~126
Squire, J. M., 1985. 肌肉收缩的分子机制. 生物科学动态, 1:31~37
Stebbings, H. & Hyams, J. S.,1979. Cell Motility. Longman Group Limited, London
Veigel, C. *et al.*,1999. The motor protein myosin-I produces its working stroke in two steps. Nature, 398: 530~533

线粒体与氧化磷酸化

线粒体为细胞内的能量转换细胞器，广泛存在于各类真核细胞中，通过氧化磷酸化将质子浓度梯度转换为 ATP，为细胞的各种生命活动提供能量。它含有自身的 DNA，是细胞内的一种半自主性细胞器。

线粒体是在各类真核细胞中广泛存在的一种细胞器。最早发现这种细胞器的是 Kollicker，他于 1857 年在昆虫横纹肌中看到了这种颗粒状结构，并对它在各种盐溶液中的变化进行了研究。1888 他还分离出了这种细胞器。1890 年 Petzius 将其命名为肌粒(sarcosome)。而 Altman 则认为，这种颗粒是寄生在细胞中的活生物，于是在 1890 年他将其命名为细胞质活粒(bioblast)。直到 1897 年 Benda 才把这种呈线状和颗粒状的结构称为线粒体(mitochondrion，此为希腊字：mito，线；chondrion，粒)(图 10－1)。1900 年，Michaelis 发现，用 Janus green B 做活体染色，对线粒体具有专一亲染性。他还证明，线粒体中的氧化反应能引起染料的颜色发生变化。

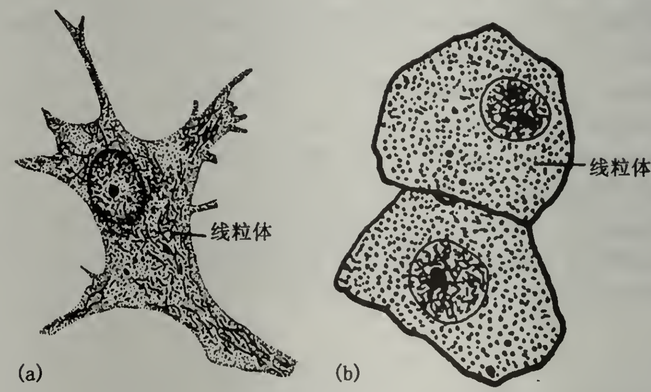


图 10－1　光镜下线粒体的形态结构示意图

(a) 成纤维细胞，示线状线粒体；(b) 肝细胞，示颗粒状线粒体

20 世纪上半叶，学者们对线粒体的生理活动做了大量的研究。1912 年 Kingsbury 认为，线粒体是氧化作用的专门部位。1913 年 Engelhardt 则证明，磷酸化和氧的消耗偶联在一起。1943～1950 年，Kennedy 和 Lehninger 更进一步证明，柠檬酸循环、氧化磷酸化和脂肪酸氧化均发生在线粒体内。次年，Lehninger 又发现氧化磷酸化需要有电子传递。

直到 20 世纪 50 年代，G. Palade，K. Porter 和 F. Sjostrand 等人利用电镜对线粒体的内部结构做了细致观察。至此，人们便有可能把线粒体的生理活动和生化变化同线粒体的结构联系起来。实验证明，三羧酸循环、氧化磷酸化等反应是在线粒体的不同部位上进行的。

第一节 线粒体的形态、大小与分布

一、线粒体的形态、大小

线粒体形态多样，一般呈线状或粒状，在电镜下一个典型的线粒体类似“香肠”状(图 10-2)。因细胞种类和生理状态不同，其形态也会有所不同，可呈椭圆形、哑铃形、环形、圆柱形、蛇形和分枝状等。例如两栖类动物的卵母细胞在成熟过程中，线粒体的一端中形成了卵黄晶体，使线粒体呈球拍状；哺乳动物卵母细胞在成熟时，线粒体呈球形或椭圆形，内部有低电子密度区；在有的细胞中，其线粒体还可呈分枝状。线粒体的形状也会随营养状态而有所改变。饥饿 3~5 天的小鼠，其肝细胞中的线粒体膨大，嵴的数量减少，甚至变稀薄。喂食后几个小时，膨大现象消退，嵴的数量增加，24h 后其形状和大小恢复正常。

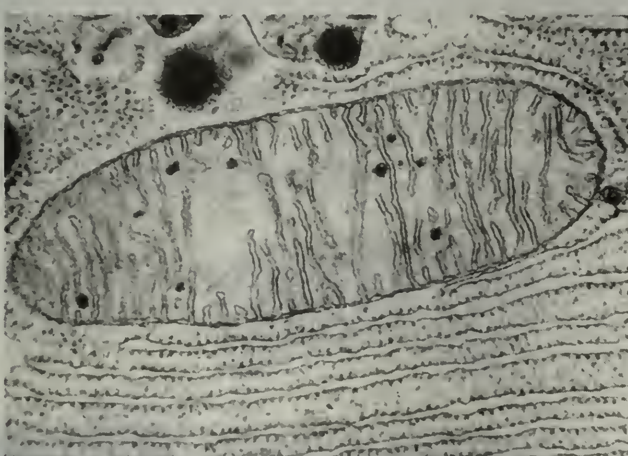


图 10-2 电镜下蝙蝠胰细胞线粒体电镜图

线粒体的大小因细胞类型和生理状态(如渗透压、温度和 pH 等)不同而不同，一般线粒体的横切面直径约为 0.5~1.0μm，长度一般为 2~8μm，最长可达 40μm。线粒体的体积大都与细菌近似。大鼠肝细胞的线粒体长达 5μm，胰的外分泌细胞的线粒体长达 10~20μm，称巨大线粒体；人成纤维细胞的线粒体可长达 40μm。

在同种细胞中及相同生理状态下，线粒体形态和大小也不是固定不变的。在活细胞中，线粒体也会表现出形态和大小的快速变化(图 10-3)。线粒体在细胞中的分布位置与细胞局部的需能状态有关，代谢旺盛的部位线粒体比较集中(图 10-4)。

二、线粒体的数量

线粒体的数量因细胞类型不同而有很大差别。除哺乳动物的红细胞无线粒体外，一般有几百至几千个线粒体。有的真菌(*Blastocladiella emersonia*)和单细胞藻(*Polytomella agilis*)中，只有一个线粒体；大鼠肝细胞有 500~1 000 个；而有的卵母细胞可达 30 万个；在巨大变形虫(*Chaos chaos*)中甚至可高达 50 万个。一般看来，动物

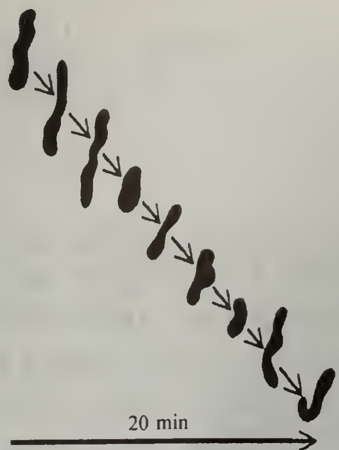


图 10－3　线粒体在活细胞中的形态变化

细胞的线粒体含量要比植物细胞的多一些。此外，同一种细胞处于不同生理状态（如能量需求程度不同）时，其线粒体数量也会不同。一个典型肝细胞中约有 500～1000 个线粒体，甲状腺功能亢进病人肝细胞中的线粒体数量增加。酵母菌在缺氧条件下生长，线粒体一代比一代减少。可是，当重新得到充分的氧和养分供应时，线粒体数量迅速增加，从而提高了 ATP 总产量，促进了代谢和生长，加快了分裂速率。

三、线粒体的分布

线粒体在细胞质中一般为随机均匀分布。细胞内的代谢和能量需求状态的不同也会导致线粒体的局部集中分布。为满足细胞代谢的需要，细胞内的代谢和能量需求状态改变时，线粒体可在细胞质中自由移动，往往在代谢旺盛的需能部位比较集中。如正在合成蛋白质的分泌细胞中，线粒体集中分布在合成分泌物的区域（如内质网周围）（见图 10－4）；在有纤毛的细胞中，在基体附近线粒体比较集中；在肌肉细胞中，线粒体集中分布在肌原纤维之间；在精子中，线粒体呈环形紧紧围绕在鞭毛周围，以利于需能部位的能量供应。Ducibella(1977)还发

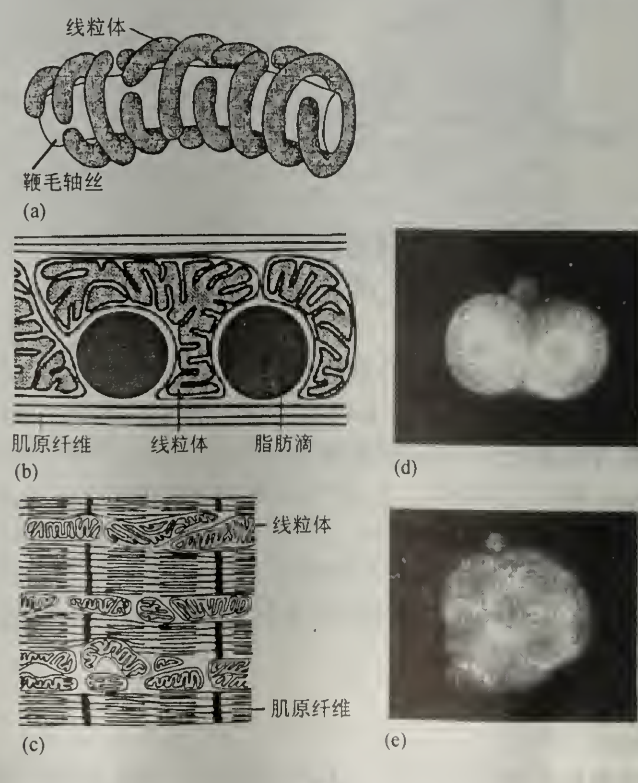


图 10－4　线粒体向需能部位的集中分布

(a)在精子轴丝部位，线粒体呈环状紧绕在轴丝周围；(b) 在心肌细胞中，线粒体紧绕在脂肪滴周围；(c)在横纹肌中，线粒体紧密排列在肌原纤维之间；(d)小鼠 2 细胞胚胎细胞中线粒体绕核集中；(e)桑椹胚中，线粒体在细胞边缘集中（罗丹明 123 荧光染料染色）

现,小鼠受精卵在进行卵裂时,线粒体集中在分裂面附近,分裂结束后,又分散开,变成均匀分布,线粒体在细胞质中局部集中,显然有利于需能部位的能量供应。在肾小管的上皮细胞中,基部线粒体同质膜内褶邻近,这种紧密关系与水和溶质的主动运输密切相关。线粒体在细胞质中的分布和迁移往往与微管有关,故线粒体常常排列成长链形,并与微管的分布相对应(图 10-5)。

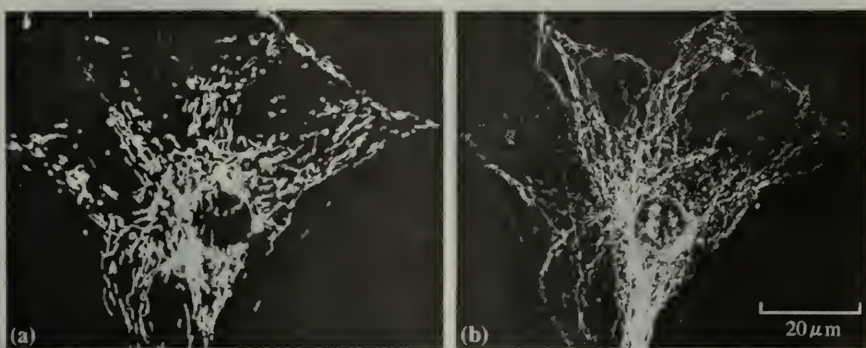


图 10-5 培养的哺乳动物细胞中线粒体的分布与微管的关系

(a) 用线粒体的特异性活体染料 rhodamine 123 所显示出的线粒体分布图; (b) 用微管蛋白抗体对同一细胞进行免疫荧光染色所显示出的微管分布图。可见, 线粒体的分布与微管有关(自 Alberts 1994)

第二节 线粒体的超微结构

在电镜下,线粒体具有基本相同的结构,即都是由双层膜围成的一个封闭的香肠状囊式结构。在三维空间结构上,线粒体的结构由 4 个部分组成(图 10-6)。

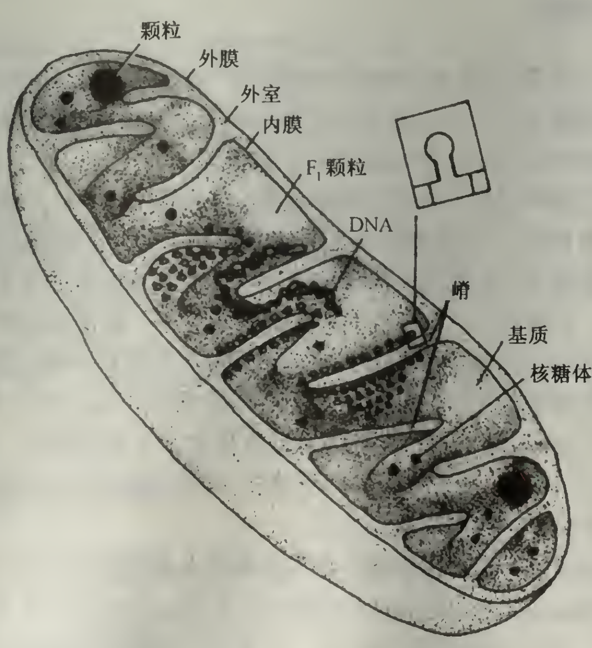


图 10-6 线粒体的三维结构图解

线粒体在超微结构上可分为外膜、膜间隙、内膜和基质四部分。

内膜内褶形成嵴, 大大扩大了内膜面积; 嵴在基质面结合有许多球形 ATP 酶颗粒, 方框中示 F_1 颗粒的头部和柄部

一、线粒体外膜

包围在最外面的一层单位膜，厚约 6nm，比较光滑，其上分布有整齐排列的圆柱体结构，由孔蛋白(porin)组成，圆柱体整体上呈筒状，中央有小孔，孔径约 2～3nm，允许 10kDa 以下的小分子穿过小孔进入外室(图 10－7)。

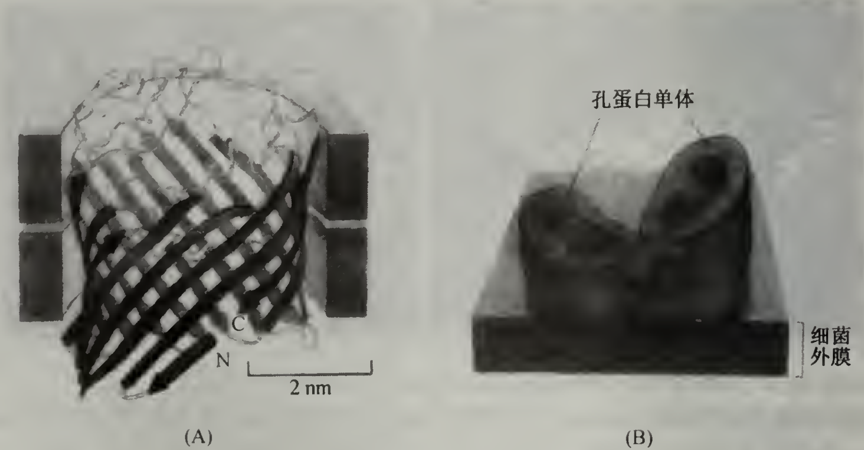


图 10－7　由孔蛋白单体形成的圆筒状孔道

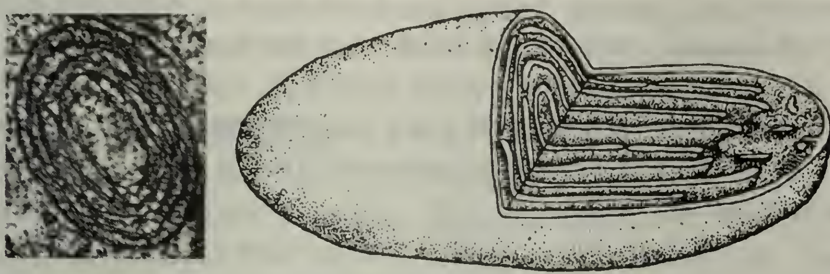
根据 X 光晶体分析绘制出的红细菌(*Rhodobacter capsulatus*)外膜孔蛋白三维结构模式图，该蛋白是由 16 股 β 折叠片围成一穿膜充水通道所组成(A)。3 个孔蛋白分子组成三体结构，各形成一通道(B)。线粒体外膜中也具有这种孔蛋白通道结构

二、线粒体内膜

内膜略厚于外膜，厚约 6～8nm，与外膜不同的是，内膜对物质的通透性很低，只让一些相对分子质量 0.11～0.15kDa 的不带电荷的小分子穿过，如水和丙酮酸等。一些较大的分子则必须经由专一的运载系统才能穿膜。

内膜向线粒体内室伸出许多褶皱或小管，称为嵴 (cristae)。嵴的存在大大扩大了内膜的面积。据计算，大鼠肝细胞线粒体嵴的面积约相当于细胞质膜面积的 10 倍，增加了内膜的代谢效率。不同类型的细胞中，嵴的形状与排列方式也不同。一般有如下几种类型的嵴：①板层状：多存在于高等动物细胞中，嵴呈板层状，且多垂直于线粒体的长轴，少数情况下，也有平行于线粒体长轴的；②管状：嵴呈管状，多存在于原生动物和大多数植物细胞中；③有的嵴呈同心圆状排列，如在 SP2/0-Ag14 骨髓瘤细胞中的线粒体(图 10－8)。此外，有的嵴由分支形成了复杂的网状。细胞的功能状态不同，嵴的数量也不同。一般需能较多的细胞中，线粒体数量较多，嵴的数量也多。嵴的数量与线粒体氧化活性的强弱程度有关。

内膜表面不光滑，嵴朝向线粒体基质的表面上规则地排列有许多圆球状颗粒，称为基本颗粒(elementary particle)或 F_1 颗粒(F_1 因子)，由于它具有 ATP 酶活性，故又称为 F_1－ATP 酶。利用磷钨酸做负染色时，在电镜下这种颗粒清晰可见，它是通过细柄与内膜相连。膜中与 F_1 因子相结合的蛋白质结构称为 F_0 因子。因此 F_1 和 F_0 因子便构成了一个大的蛋白质复合物，称为 F_0F_1－ATP 酶或 ATP 合成酶(ATP synthetase)。ATP



(a) (b)

图 10-8 SP2/0-Ag14 骨髓瘤细胞中同心圆状线粒体嵴的形态结构
(a) SP2/0-Ag14 骨髓瘤细胞中同心圆状线粒体嵴的电镜照片;(b) (a)的模式图解
(自樊廷俊,李 波,韩贻仁等 1993)

合成酶在氧化磷酸化中起偶联作用,可将 H^+梯度势能转换为 ATP。

三、膜间隙

内膜和外膜之间有一宽约 6~8nm 的较小间隙, 称为膜间隙 (intermembrane space)。但有时某些部位的内、外膜紧密接触,没有膜间隙,为细胞质基质中所合成的蛋白质进入线粒体的部位;但在呼吸活跃时,间隙扩大,并充满无定形液体。液体中含有一些可溶性酶类、底物和辅助因子。嵴内所包围的空间又称为嵴内隙 (inner cristae space), 与膜间隙相通,实际上是膜间隙的一部分。

四、线粒体基质

为由内膜所包围的空间, 其内充满均质的胶状物质, 含有蛋白质、脂类和一些有形成分。其中的蛋白质包括许多酶类, 如催化三羧酸循环、脂肪酸氧化和丙酮酸氧化等有关的酶类。有形成分主要为一些丝状物质、核糖体及一些致密颗粒状物质。丝状物质主要为环状 DNA 和 RNA, 所含核糖体在不同物种的细胞中大小不同, 如在酵母中为 70S, 在哺乳动物中为 55S; 致密颗粒状物质中含有 Ca^{2+}、Mg^{2+}或 Zn^{2+}等, 其中含有 Ca^{2+}的颗粒状物质可能是磷酸钙的沉积物, 功能与储积 Ca^{2+}有关, 也可结合 Mg^{2+}, 而线粒体本身又是一个 Ca^{2+}储存器, 在一定程度上能控制细胞质中的 Ca^{2+}浓度。

第三节 线粒体的化学组成与酶的定位

一、线粒体各部分的分离

线粒体是细胞内一种非常微小的细胞器, 要对其各部分进行化学分析, 首先必须将其各部分分离开来。完整的线粒体通过差速离心便能分离出来,而各种亚线粒体成分则需要利用密度梯度离心来进行分离。

分离外膜一般有两种方法, 一种是通过低渗处理, 让线粒体吸水膨胀, 直到把外膜胀破, 然后使剩下的内膜和基质收缩; 另一种是使用两种去垢剂——毛地黄苷

(digitonin)和 Lubrol。毛地黄苷可使完整的内膜与外膜分开。完整的内膜和基质又称为线粒体质体(mitoplast)。外膜很轻，要用强离心力和低的密度梯度才能分离出。外膜与内膜分开后，便可分别对其酶系统进行定位和定性研究。去掉外膜后，线粒体质体仍能进行氧化磷酸化活动，说明氧化磷酸化酶系存在于线粒体的内膜上。去垢剂 Lubrol WX 又可进一步使线粒体质体的内膜与基质分离。线粒体各部分用去垢剂分离的过程图解如下(图 10－9):

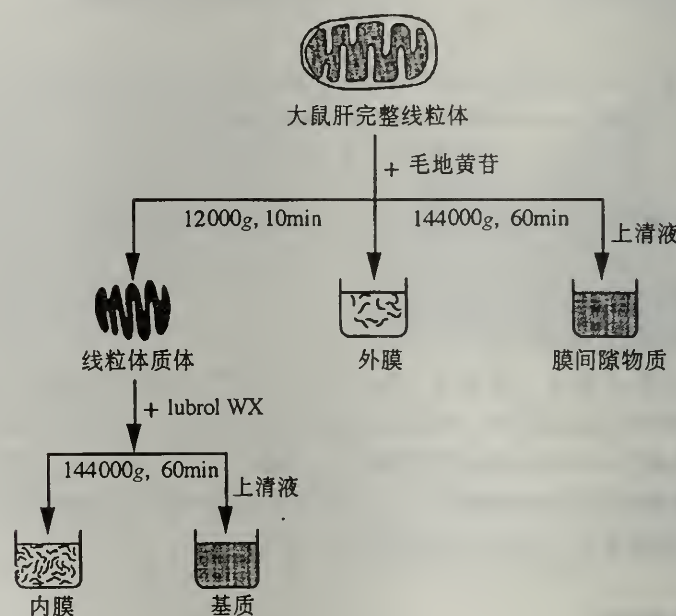


图 10－9　利用去垢剂对线粒体各部结构的逐级分离图解

利用这种方法，可将线粒体各部分分离出来并进行生化定性分析。

二、线粒体的化学组成

线粒体的化学成分主要是蛋白质和脂类，此外还含有 DNA 和 RNA。其中，蛋白质的含量约占线粒体干重的 65%～70%，脂类仅占 25%～30%。蛋白质和脂类在线粒体外膜和内膜中的分布量有很大差异，一般来说，外膜中蛋白质和脂类各占 50%；而内膜中蛋白质占 80%，脂类占 20%，且大部分蛋白质系 ATP 酶复合物。内膜的蛋白质/脂类高比值的特点在线粒体的生物学功能上具有重要的意义。以大鼠肝线粒体为例，内膜蛋白为整个线粒体蛋白质含量的 21%，外膜蛋白占 6%、膜间隙蛋白占 6%、其余的 67% 均存在于线粒体基质中。线粒体中的蛋白质又可分为可溶性和不溶性两类，可溶性蛋白多为线粒体基质中的酶和一定数量的膜内在蛋白质；不溶性蛋白多为膜的必要成分，其中一部分为结构蛋白，一部分为酶蛋白。

线粒体中脂类含量仅为 25%～30%，其中在大部分是磷脂。磷脂中主要是卵磷脂、磷脂酰乙醇胺和心磷脂，还有少量的磷脂酰肌醇及其他胆固醇类。这些磷脂类物质在整个电子传递中起重要作用。一般，外膜含胆固醇和磷脂比内膜高。

除蛋白质和脂类外，线粒体还有许多辅酶、维生素、金属离子（如 K^+、Na^+、Mg^{2+}、Fe^{2+}、Zn^{2+}、Cu^{2+}等）和线粒体 DNA、RNA、核糖体等 。

三、线粒体中各种酶的定位

线粒体中已被确认的约有 120 多种酶，分布在各个结构组分中。其中 37% 是氧化还原酶，10% 是合成酶，水解酶不足 9% 。由于线粒体各部位的功能不同，因此所含的酶也不同。一般说来，电子传递链和氧化磷酸化的酶存在于内膜中；参与三羧酸循环、脂肪酸氧化和丙酮酸氧化的酶存在于线粒体基质中。如外膜的特征酶是单胺氧化酶；膜间隙的特征酶是腺苷酸激酶；内膜的特征酶是细胞色素氧化酶；线粒体基质的特征酶是苹果酸脱氢酶。

分布在膜间隙中的酶如腺苷酸激酶等较易用盐溶液提取出来；存在于基质中的酶蛋白需要用机械的方法（如超声波等）处理线粒体才能提取出来，如完成三羧酸循环所需的酶系和参与氨基酸和脂肪代谢的酶系，还有与 DNA 和蛋白质生物合成有关的酶系；而存在于内膜上的酶蛋白需要破坏线粒体的结构后才能被提取出来，这部分包含呼吸链酶系和 ATP 酶复合物等。一些主要酶在线粒体各组成部分中的分布见表 10－1。

表 10－1　线粒体中各种酶的定位

部　位	酶　的　名　称
外　膜	单胺氧化酶、NADH－细胞色素 c 还原酶、犬尿氨酸羧化酶、脂肪酸辅酶 A 连接酶
膜　间　隙	腺苷酸激酶、核苷二磷酸激酶
内　膜	细胞色素氧化酶等呼吸链酶系、琥珀酸脱氢酶、ATP 合成酶、丙酮酸氧化酶、NADH 脱氢酶、肉毒碱脂肪酸酰基转移酶、β-羟丁酸脱氢酶、β-羟丙酸脱氢酶
线粒体基质	苹果酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶、脂肪酸氧化酶系、柠檬酸循环酶系、蛋白质和核酸合成酶系

第四节　线粒体的功能与氧化磷酸化

线粒体的主要功能是进行氧化磷酸化和储积钙离子，且主要为前者。在动物细胞中，80% 以上的 ATP 是在线粒体中合成的。线粒体通过氧化磷酸化合成 ATP，为细胞的生命活动提供能量，是细胞能量来源的主要途径。线粒体是糖、脂肪和氨基酸最终氧化释放能量的场所。糖和脂肪等营养物质在细胞质中经过酵解作用产生丙酮酸和脂肪酸，这些物质选择性地从细胞质进入到线粒体基质中，经过系列变化形成乙酰 CoA 进入三羧酸循环；三羧酸循环所产生的能量交给线粒体内膜上的呼吸链，最后传递给氧。在此过程中，能量较高的电子，经过电子传递降到能量较低的水平。所释放的能量以高能磷酸键的形式，储存于 ATP 中，此即氧化磷酸化的过程（图 10－10）。

储积钙离子也是线粒体的重要功能之一。线粒体基质中的致密颗粒状物质与储积 Ca^{2+}有关。因此，线粒体本身还是一个 Ca^{2+}储存器，可起到控制细胞质中 Ca^{2+}浓度的作用。在活细胞中，线粒体常常与糙面内质网相邻，其间还常有多点接触。最近在 HeLa 细胞中的研究表明，与线粒体紧密接触的糙面内质网对线粒体的 Ca^{2+}信号具有决定作用。

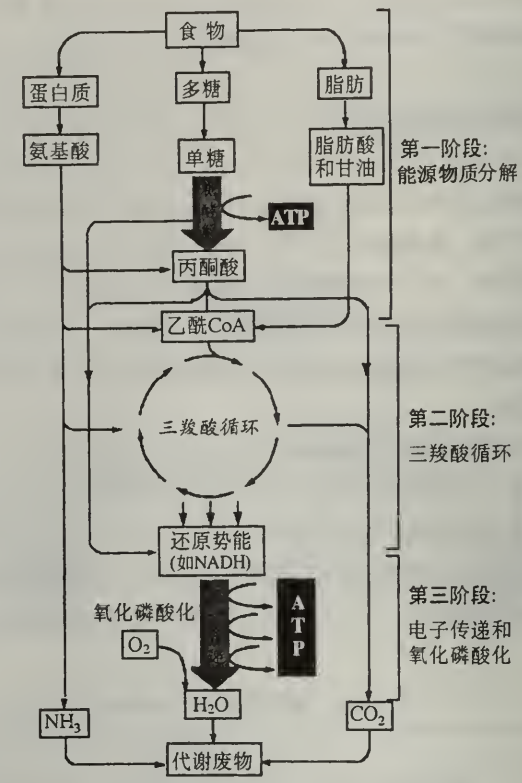


图 10 - 10　有氧呼吸的三个阶段

第一阶段:大分子分解为简单亚基,并进一步降解成乙酰 CoA, 产生少量 ATP 和 NADH; 第二阶段:亚基分解成乙酰 CoA,产生有限的 ATP 和 NADH; 第三阶段:乙酰 CoA 完全氧化为 H_2O 和 CO_2,产生大量 NADH 和 ATP

最近的研究结果表明,线粒体作为起始凋亡的主开关,可以开启内膜上的非特异性通道——线粒体通透性转变孔(mitochondrial permeability transition pore, mtPTP),在调控细胞凋亡中还具有重要作用。现已在线粒体膜间隙中鉴定出了多种死亡促进因子,包括细胞色素 c、凋亡诱导因子 (apoptosis-inducing factor, AIF) 和被称为切冬酶(caspase)的潜伏蛋白酶。AIF 是一种 57kDa 的黄素蛋白,与细菌的氧化还原酶具有序列同源性。AIF 作为线粒体内的一种效应子(effector),平时被隔离在线粒体的膜间隙中。mtPTP 的开启改变了膜电位,使线粒体内膜隆起,释放出这些死亡促进因子。释放出的细胞色素 c 可激活胞质中切冬酶的蛋白降解途径,引起胞质结构的破坏;AIF 释放后移位到细胞核内,使染色质凝缩并造成 DNA 的大规模断片化,进而使细胞死亡。mtPTP 的开启及随后引起的细胞死亡可为线粒体对 Ca^{2+}的过量摄取所启动。Ca^{2+}过量摄取增加了暴露于反应性氧种类(reactive oxygen species, ROS, O^{2-})的时间,并降低了产能效率。因此,线粒体产能的明显减少和氧化压力的逐渐加剧,激活了 mtPTP,启动了细胞凋亡。

一、生物氧化的分区和定位

生物氧化又名细胞氧化,其第一步是在细胞质中将多糖、脂肪和蛋白质分解成简

单的可溶性产物。在糖酵解过程中，一旦产生了丙酮酸或乙酰 CoA，即可进一步参加三羧酸循环。早在 1950 年，Kennedy 和 Lehninger 就发现线粒体是真核细胞进行呼吸与产生 ATP 的部位。丙酮酸可通过穿梭机制进入线粒体，另外在线粒体内膜上还存在有丙酮酸脱氢酶复合物，能催化丙酮酸转化为乙酰 CoA。

三羧酸循环酶系存在于线粒体基质中，因而乙酰 CoA 在线粒体基质中通过三羧酸循环可被氧化成 CO_2，而将能量传递给 NAD(辅酶 I)，使 NAD^+ 被还原成 NADH 和 H^+。NADH 的产生是呼吸链中氧化还原反应的第一步，由它向呼吸链提供 1 对电子，通过呼吸链酶系传递下去。因此呼吸链又称为电子传递链。

电子传递链酶系和氧化磷酸化作用均定位在线粒体的内膜上。电子传递链包括有 NADH 脱氢酶(以 FMN 为辅基)、铁硫蛋白、辅酶 Q、细胞色素 b、细胞色素 c、细胞色素氧化酶(细胞色素 a 和细胞色素 a_3)。通过电子传递链，电子由 NADH 传递给分子氧。另外，有些代谢中间产物的脱氢酶以 FAD 为辅基，如琥珀酸脱氢酶在氧化时，其电子要交给 FAD，经 FAD 再传给 CoQ 进入电子传递链。

二、电子传递和氧化磷酸化的分子结构基础

有许多实验证明，线粒体内膜的电子传递和氧化磷酸化虽然是密切偶联在一起的，但却是通过不同的结构系统进行的。有许多氧化磷酸化的抑制剂均为解偶联剂，如 2, 4 – 二硝基苯酚即能使氧化磷酸化和电子传递系统解除偶联，它能在保持电子传递和耗氧的情况下，抑制 ATP 的合成。这说明氧化与电子传递系统分别进行。

通过线粒体内膜的重组实验，也可证明电子传递系统和氧化磷酸化是两个不同的结构系统。1968 年，E. Racker 等人用超声波将线粒体破碎后，线粒体内膜碎片可自然卷成小的膜泡，这些小泡称为亚线粒体小泡 (sub-mitochondrial vesicle) 或亚线粒体颗粒。内膜上的基本颗粒位于小泡的外表面。完整的亚线粒体小泡具有电子传递系统和氧化磷酸化反应的功能，是一种理想的实验模型。如果用尿素或胰蛋白酶处理亚线粒体小泡，则小泡表面上的基本颗粒 (即偶联因子 F) 可解离出来，这样小泡便只能进行电子传递，而失去了合成 ATP 的能力。可是如果把 F 因子再装配到无颗粒小泡上时，则小泡又恢复了把氧化磷酸化同电子传递相偶联的能力。由此可见，由 NADH 脱氢酶至细胞色素氧化酶的整个电子传递链存在于膜本身，而氧化磷酸化作用却由基本颗粒 (ATP 酶复合物) 来承担 (图 10 – 11)。



图 10 – 11　亚线粒体小泡的产生和重建实验图解
(a) 小泡的产生和重建实验，说明线粒体内膜亚单位的功能是偶联氧化和磷酸化；(b) 小泡的电镜照片

(一)电子传递链(呼吸链)

电子传递链由结合在内膜上的许多酶和其他分子所组成，承担着电子传递的作用。组成该链的分子可分为四大类，即黄素蛋白、铁硫蛋白、辅酶 Q 和细胞色素，除辅酶外，其他组分均为蛋白质。每种成分都为电子传递体，可连续接受电子和提供电子，其中黄素蛋白和 CoQ 还是载氢体。

(1)黄素脱氢酶：常见的有两种，NADH 脱氢酶和琥珀酸脱氢酶。黄素蛋白是由一条多肽和与之紧密结合的两个辅基所组成，这两个辅基是黄素腺苷单核苷酸(FMN)和黄素腺苷二核苷酸(FAD)，FMN 和 FAD 分子中能进行加氢和脱氢反应，它们都能携带两个氢原子，为递氢体和电子传递体(可传递 2 个 H^+ 和 2 个 e^-)。

(2)铁硫蛋白：有多种，含非血红素铁和对酸不稳定的硫。常见的含有 Fe_2S_2 和 Fe_4S_4 的铁硫蛋白，通过 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 之间相互转变可以传递电子，为电子传递体(可传递 1 个 e^-)。

(3)辅酶 Q：小的脂溶性醌类化合物，有三种不同的氧化还原状态，Q(氧化型醌)、QH(半醌)和 QH_2(原型醌)。为递氢体和电子传递体(可传递 2 个 H^+ 和 2 个 e^-)。

(4)细胞色素：分子中有血红素铁和蛋白质共价连接，有 a、a_3、b、c、c_1 五类；除 c 外，均与内膜紧密结合；a、a_3 除含 Fe 外，还含 Cu，又名细胞色素氧化酶。也可通过 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 之间相互转变来传递电子，为电子传递体(可传递 2 个 e^-)。

这些呼吸链的主要成分并非独立分布在内膜上，而是以复合物的形式包埋在内膜中，用温和去垢剂已经从内膜中分离出电子传递链的几种脂蛋白复合物。Green 等人将其分为 4 种，即复合物Ⅰ(NADH－Q－还原酶)(FMN→[Fe—S]$_n$)、复合物Ⅱ(琥珀酸－Q－还原酶)(FAD→[Fe—S])、复合物Ⅲ(QH_2－细胞色素 c－还原酶)(b→Fe—S→c_1)和复合物Ⅳ(细胞色素氧化酶)(aa_3，Cu^{2+})。这四种复合物的组成和分布列于表 10－2。

表 10－2　线粒体呼吸链的组成成分及其排列位置

酶复合物	亚基数	辅　基	与膜的关系	催化部位分布位置	功　能
复合物Ⅰ (850kDa)	43×2	1FMN，16～24FeS (6 个 FeS 中心)	整　合	NADH 部位：M 侧 Q 部位：中央	电子传递体，H^+ 转移体 (NADH→辅酶 Q)
复合物Ⅱ (140kDa)	4	1FAD，8FeS，1 细胞色素 b(3 个 FeS 中心)	整　合	琥珀酸部位：M 侧 Q 部位：中央	电子传递体 (琥珀酸→辅酶 Q)
复合物Ⅲ (480kDa)	11×2	2 细胞色素 b，1 细胞色素 c_1，2FeS	整　合	Q 部位：中央 细胞色素 c_1 部位：C 侧	电子传递体，H^+ 转移体 (CoQ→细胞色素 c)
复合物Ⅳ (160kDa)	13×2	2 细胞色素 a，2 细胞色素 a_3，2Cu	整　合	细胞色素 a 部位：C 侧 O_2 部位：M 侧	电子传递体，H^+ 转移体 (细胞色素 c→O_2)
细胞色素 c (13kDa)	1	1c-血红素	边　周	细胞色素 c_1 部位：C 侧 细胞色素 a 部位：C 侧	电子传递体 (CoQ→细胞色素 a)

上述四种复合物中均含有相当数量的脂类，以维持电子传递体的功能。它们相互配合、协调作用，来完成电子和质子的传递。复合物Ⅰ与Ⅲ和Ⅳ组成一条主呼吸链，催

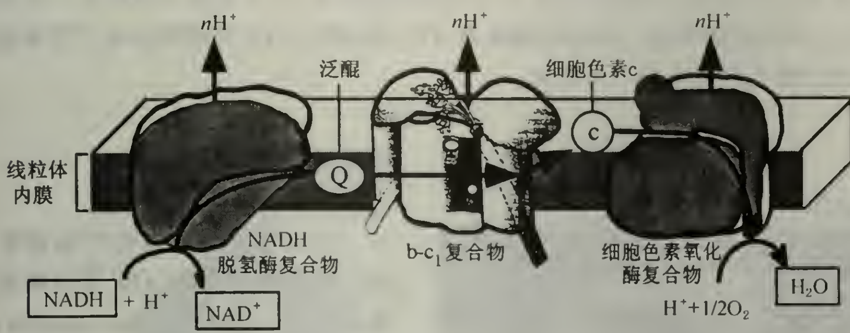


图 10－12　线粒体内膜中电子传递链复合物的结构和分布图解

化 NADH 的氧化;复合物Ⅱ与Ⅲ和Ⅳ则组成另一条呼吸链,催化琥珀的氧化。这些复合物在线粒体内膜中既具有一定的流动性，又有一定的相对空间分布，实际上它们组成了典型的多酶体系(图 10－12)。分离后的这些复合物,如果以适当比例混合,则可重建成电子传递链。由 NADH 和琥珀酸提供的电子由膜的 M 侧进入呼吸链。

最近对小牛心脏线粒体细胞色素 bc_1 复合物(复合物Ⅲ)的结构分析表明，该复合物为二聚体,每个单体含 11 个不同的多肽亚基,所有亚基的一级结构均已清楚;一个单体的大小约为 240kDa,其核心亚基(亚基 1 和 2)还是线粒体加工肽酶(mitochondrial processing peptidase，MPP）蛋白质家族的成员，表明细胞色素 bc_1 复合物具有双重功能,除具有电子传递体和递氢体的作用外,对线粒体的输入蛋白质还具有加工功能。

通过对酵母线粒体的分析表明，细胞色素氧化酶是由 8 个亚基所组成，M_r 在 4～5kDa 之间,3 个大亚基在线粒体核糖体上合成,是强疏水性的。这 8 个亚基按功能顺序排列，在 C 侧同细胞色素 c 接触。电子由细胞色素 c 传至细胞色素 a(C 侧)，再传到 Cu^{2+}(可能在疏水亚基中)。最后传到细胞色素 a_3 和氧(M 侧)。

呼吸链中各种组分的排列高度有序。电子传递链的各种成分通过氧化还原反应将 NADH 提供的电子依次向下传递,最后被 O_2 接受并还原为水的传递过程中,氧化还原势能呈梯度性上升(自由能下降)。呼吸链中各组分的排列顺序见图 10－13。

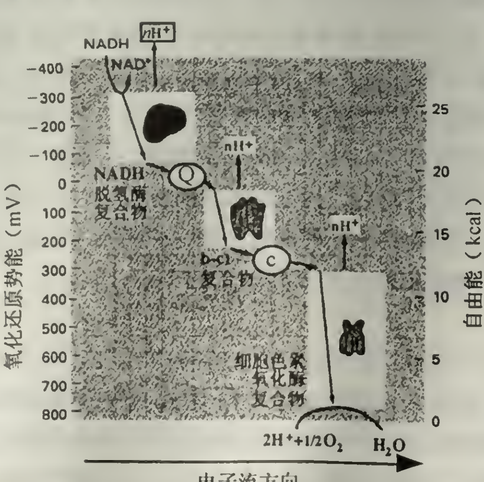


图 10－13　线粒体内膜中电子传递链各组分的排列顺序及其氧化还原势能(自 Alberts　1994)

线粒体中的氧化和磷酸化是两个不同的结构体系，但又是密切偶联在一起同时进行的。将二者密切偶联在一起的结构就是 ATP 合成酶。ATP 合成酶和电子传递链的各类成分在内膜上的分布是不对称的。

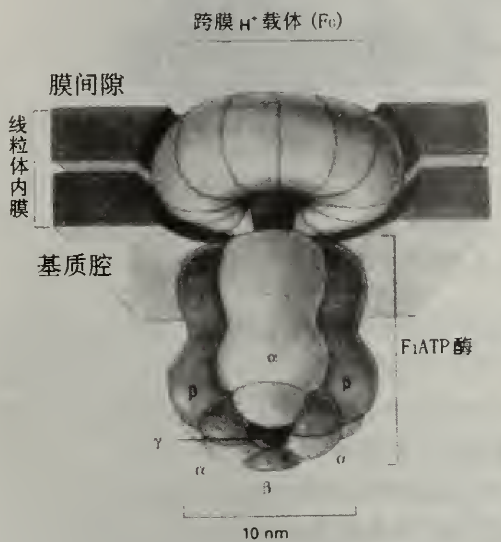


图 10－14　线粒体 ATP 合成酶结构模型

合成酶由一个头部和一个柄部组成。头部为 F_1ATP 酶；柄部为 F_0H^+ 载体。二者均由多亚基组成。头部的希腊字母为各亚基的代号(Alberts, B. 1998)

(二)ATP 合成酶

在氧化磷酸化过程中起偶联作用的结构是内膜上的 ATP 合成酶或 ATP 酶复合物 (F_0-F_1 ATPase complex)，即 F_0-F_1 偶联因子 (F_0-F_1 coupling factor)。它是由多种肽链构成的复合物，在人中由 16 条多肽链组成，*M*r 为 500kDa，在结构上可分为三部分，即头部 (head sector) (F_1 因子) (F_1ATP 酶) 和膜部 (membrane sector)(F_0 因子)(图 10－14)。ATP 合成酶又简称为 F_0-F_1 复合物，F_1 和 F_0 因子均是由多个亚基组成。ATP 合成酶中构成了一条亲水性通道，允许 H^+ 顺电化学梯度流过。

1. 头部

该部是由内膜伸出的基本颗粒，呈亲水性，很容易分离下来，称为 F_1 偶联因子，简称为 F_1 因子。F_1 因子是依赖于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 ATP 酶，由 10 条多肽链组成。这些肽链分为 5 种，即 3α、3β、γ、ε 和 δ，其 M_r 依次为：56、52、32、21 和 11.5kDa。根据酶的活性分析，这 5 种多肽有一定的排列次序。如果把这些多肽亚基彼此分开，单独存在则均无酶活性，而 α 和 β 亚基结合后，则表现出 ATP 酶活性。F_1 因子是以 δ 亚基同柄部结合。当 F_1 因子同柄部和膜部结合时，其 ATP 酶活性可被寡霉素所抑制。

头部除了含有 10 个多肽亚基外，还有 1 个热稳定的小蛋白质分子结合在 F_1 因子上，这一蛋白质称为 F_1 抑制蛋白(F_1 inhibitor protein)，M_r 为 10kDa。其作用是抑制 ATP 酶水解 ATP，但不抑制 ATP 酶催化氧化磷酸化。为 ATP 酶的天然抑制剂。

头部中有一由多亚基组成的细柄插入到穿膜 H^+ 载体 (F_1 因子) 中，将 F_1 与 F_0 连接起来。有的学者主张，当 H^+ 穿过膜部时，可像推动风车一样推动细柄快速旋转，引起头部(F_1)合成 ATP。据推算合成速率相当快，每分钟可合成 100 多个 ATP 分子。每合成一个 ATP 分子平均约须用 3 个 H^+ 流过(图 10－15)。

2. 膜部

构成膜部的成分称为 F_0 因子，M_r 为 70kDa，含有多条多肽链。这些多肽链多为疏水性的，嵌插在膜脂中。其中研究得最清楚的是一种小的脂蛋白 (proteolipid)，它是一种非极性很强的物质，是极少数能溶于多种有机溶剂的蛋白质之一。ATP 合成的抑制剂，如寡霉素和 DCCD(N′－N 环己基二亚胺)，只有同这种脂蛋白结合才起抑制作用，

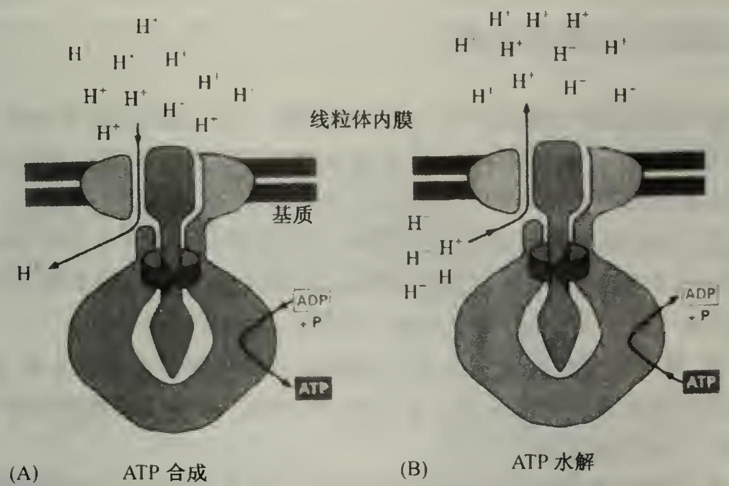


图 10-15 ATP 合成酶利用质子电化学梯度进行能量转变示意图

ATP 合成酶是一种可逆性的偶联装置，它既可将质子浓度的电化学势能转变为化学键能(A)，也可将化学键能转变为质子梯度势能(B)。(自 Alberts, B. *et al.* 1998)

因此脂蛋白是 F_0 因子的寡霉素敏感成分。F_0 因子的功能和传递质子有关，它是 H^+ 载体，可专一性地传递质子。当去掉 F_1 因子时，膜便对质子具有高度通透性，质子泄漏到基质中。F_1 结合到膜上后，则可堵住质子的泄漏，这说明，F_0 因子中含有质子穿膜到达 F_1 因子的通道。ATP 合成酶中各成分的相对分子质量列于表 10-3。

表 10-3 牛心线粒体 ATP 酶复合物中各种成分的相对分子质量 M_r

成 分	M_r(kDa)
F_1	
α	53
β	50
γ	33
δ	17
ε	7
F_1 抑制蛋白	10
F_0	
F_6	8
DCCD 结合蛋白	10~14
B 因子	12
	29
	14

ATP 合成酶是一种具有双向作用的偶联装置。通常它利用顺电化学梯度的 H^+ 流势能合成 ATP。反之，它也可利用水解 ATP 释放出的能量起质子泵作用，将 H^+ 抽到膜外。究竟向着哪个方向运转要决定于净自由能(ΔG)，当电化学梯度降低到一定的程度时，ΔG 不足以支持 H^+ 运进基质合成 ATP。这时，ATP 反而被 ATP 酶水解，向外室运输 H^+，以恢复梯度。

三、氧化磷酸化的偶联机制

1 分子葡萄糖通过糖酵解可产生 2 分子丙酮酸，这一变化过程在细胞质中同时产生了 2 分子 ATP、2 分子 NADH + H^+，后者通过呼吸链形成了 4 或 6 分子 ATP。因而 1 分子葡萄糖在糖酵解过程中可产生 6 或 8 分子 ATP。

丙酮酸进入线粒体基质，参加了三羧循环，经脱氢作用形成了 3 分子 NADH + H^+和 1 分子 $FADH_2$。在有氧条件下，它们通过呼吸链，分别产生了 9 个、3 个和 2 个分子 ATP，在循环中还产生 1 分子 GTP(相当于 ATP)，共产生 15 个 ATP 分子。

由此可见，每分子葡萄糖产生 2 分子丙酮酸，在糖酵解阶段产生 6 或 8 分子 ATP，通过三羧酸循环和氧化磷酸化又产生了 30 分子 ATP。故 1 分子葡萄糖完全氧化后可产生 36 或 38 个 ATP 分子。

NADH 和 $FADH_2$ 是两种还原性的电子载体，它们所携带的电子经线粒体内膜上的呼吸链传递给 O_2。在电子传递过程中，电子携带的能量被 F_1-F_0 复合物再来催化 ADP 磷酸化，合成 ATP，表示出电子传递过程和磷酸化的关系。在正常条件下，电子传递水平和磷酸化水平总是相互密切偶联，没有磷酸化就不进行电子传递。根据对相邻电子载体的氧化还原电位的测定表明，呼吸链中有 3 个主要的能量释放部位，即 NADH 至 FMN 之间，细胞色素 b 至细胞色素 c 之间和细胞色素 a 至 O_2 之间。这 3 个部位释放的能量依次为 50. 8kJ、41kJ 和 99. 5kJ，都可以使 ADP 磷酸化生成一个分子的 ATP。

关于电子传递同磷酸化的偶联机制至今尚未完全搞清。目前，普遍使用化学渗透假说(chemiosmotic coupling hypothesis)来解释电子传递同磷酸化的偶联机制。下面对这种假说做一简介。

1961 年，英国生物化学家 P. Mitchell 提出了氧化磷酸化机制的化学渗透学说，亦称为电化学偶联学说。这一学说的中心思想是，电子传递链不对称分布，起着质子泵的作用；在电子传递过程中所释放的能量转化成了跨膜的 pH 梯度和电位梯度；由于内膜具有完整性，因此在将质子从内室泵至外室时，质子只能经由 F_1-F_0 ATPase 返回基质，该酶便可利用其能量合成了 ATP。在这种偶联反应中不需要经过高能中间产物。Mitchell 因此项研究成就而荣获 1978 年诺贝尔化学奖。

这一学说认为，线粒体内膜中的电子传递链起着质子泵的作用。在 NADH 提供 1 对电子经电子传递链传递给氧的过程中，可把基质中的 3 对 H^+抽提到外室中。其具体反应过程是这样的：黄素单核苷酸(FMN)接受了 NADH 的 1 对电子和 1 个质子(H^+)，并从基质中吸收 1 个质子，而被还原成了 $FMNH_2$，$FMNH_2$ 将 1 对电子传给了铁硫蛋白(FeS)，同时，把 1 对质子释放到外室中，FeS 把这对电子传给 2 个泛醌(CoQ)分子，2 个泛醌分子又从基质中摄取 2 个质子，从而还原成了 2 个半醌(QH)分子。醌在内膜中可行穿膜环形运动，形成醌循环。2 个半醌分子又从细胞色素 b 获得 2 个电子，并从基质中摄取 2 个质子，形成了全醌(QH_2)。当全醌移动到膜外侧时，便把 2 个电子交给了 2 个细胞色素 c_1 分子，并向外室释放 1 对质子，本身又变为半醌。当半醌移至接近细胞色素 b 时便把另外 2 个电子交还给细胞色素 b，并又向外室释放出 1 对质子。细胞色素 b 的 1 对电子穿膜回到 Q 循环。细胞色素 c_1 接受的 1 对电子继续通过细胞色素 c 和细胞色素氧化酶传给 O_2。于是，1 对电子通过呼吸链中电子载体和氢载体的交替传递，将 10 个质子从基质抽提到外室中，经 ATP 合成酶催化可合成 3 个 ATP 分子(图 10－16)。

然而,需要指出的是,Mitchell 最初提出化学渗透学说时,并没充分考虑到细胞色素氧化酶的作用,只把它看成是电子传递体,而不是质子泵。

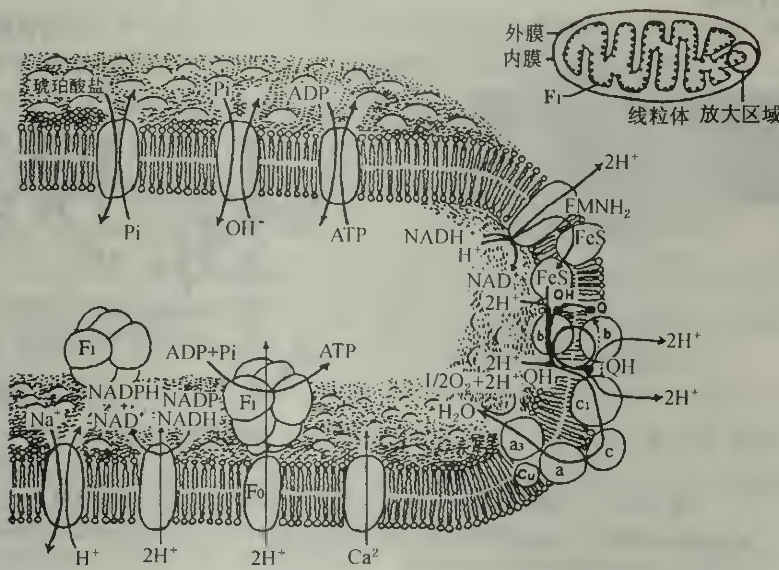


图 10 - 16 化学渗透学说关于氧化磷酸化的偶联机制模型

后来,经过学者们的努力,对细胞色素氧化酶有了较深入的认识。在组成呼吸链的几个复合物中,目前对结构研究得最比较清楚的是细胞色素氧化酶。根据 X 线衍射的研究表明,细胞色素氧化酶是由 3 个亚基所组成,其中一个亚基含有活性部位,其他亚基起辅助作用。活性部位中有一个由 Fe 原子和 Cu 原子构成的双金属中心。活性部位的作用是负责把从细胞色素 c 接受来的电子传递给氧,在传递过程中同时把 H^+抽取到膜外(外室)。活性部位中含有 2 个细胞色素 c、3 个 Cu 原子和 2 个 Fe 原子,中心可较紧密地与 O_2 结合。一个 Fe 原子从细胞色素 c 接受 e^-,将其传递给 Fe-Cu 中心。Fe 原子每次只接受一个 e^-,当接收到 4 个电子时,即可将结合在中心上的 O_2 还原成 2 个 H_2O。金属原子是通过价态变化传递电子,而质子泵则是蛋白质在电子能量的驱动下发生构象别构变化将 H^+泵质膜外(图 10-17)。

由于电子传递链不断地工作,在内膜的内外形成了明显的质子浓度差。膜外[H^+]高,[OH^-]低,膜内[OH^-]高,[H^+]低,因而在膜内外形成了 pH 差和电位差。这种梯度差,含有很高的能量。外室中高浓度的 H^+有返回基质的趋势,H^+不能自由穿过内膜,唯一可通过的部位是 F_1-F_0 复合物。当 H^+通过 F_1-F_0 偶联因子进入内室时,F_1 因子中的 ATP 酶利用这种势能催化 ADP 同 Pi 化合,形成 ATP。根据推算,每 1 对质子驱动合成 1 个 ATP 分子。pH 梯度(ΔpH)和因电荷隔离形成的电梯度($\Delta\psi$)所储存的电化学梯度自由能总称质子动力(proton motive force)(Δp)。质子动力是推动 ATP 合成的有效能量。梯度越大,质子动力越大,则可供利用的自由能越大。质子动力与 pH 梯度和电梯度的关系如下:(1pH≈59mV)

$$\Delta P = \Delta\psi - 2.3\frac{RT}{F}\Delta \text{pH} = \Delta\psi - 59\Delta \text{pH}$$

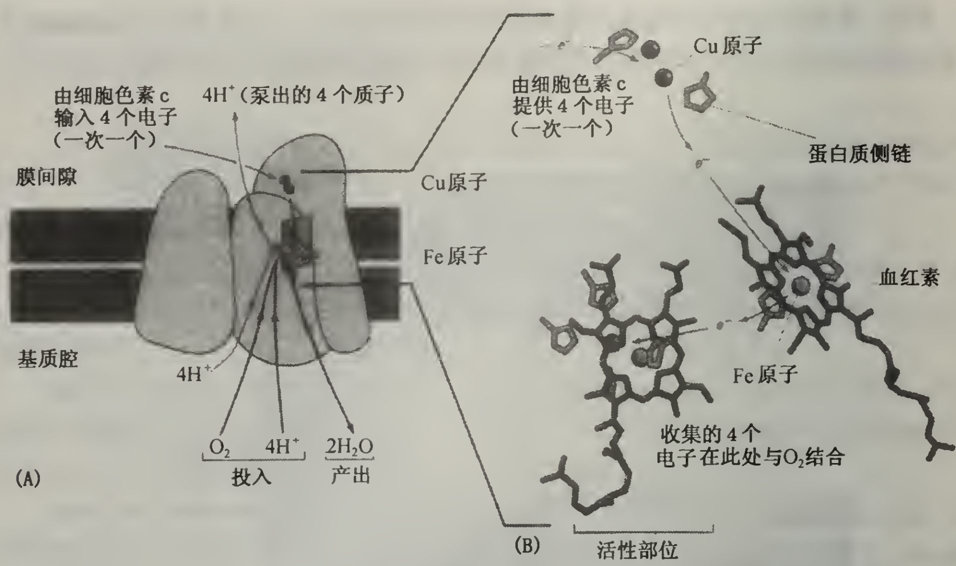


图 10－17　细胞色素氧化酶复合物的结构和传递电子机制图解

细胞色素氧化酶3个亚基的排列形态；(B)活性部位传递电子的过程(自 Alberts　1998)

式中 R 为气体常数，T 为绝对温度，F 为法拉弟常数。因此可根据测得的 $\Delta\psi$ 和 ΔpH 数值计算 ΔP。例如，大鼠肝线粒体的 $\Delta\psi$ 为 139 mV，ΔpH 为 －1.41（＝－84mV），ΔP 为 223mV，正在呼吸过程中的典型质子动力超过 200mV，其中电梯度约为 150mV，pH 梯度差约为 －1pH 单位。

由此可见，化学渗透学说主张，氧化磷酸化偶联的基本步骤是，电子传递中的自由能差造成 H^+ 跨膜传递，暂时转变为电化学梯度，然后，释放出能量，通过 ATP 酶催化，合成 ATP(图 10－18)。

化学渗透学说的要点可综合如下：

(1) NADH 提供一对电子，经电子传递链，最后为 O_2 所接受。

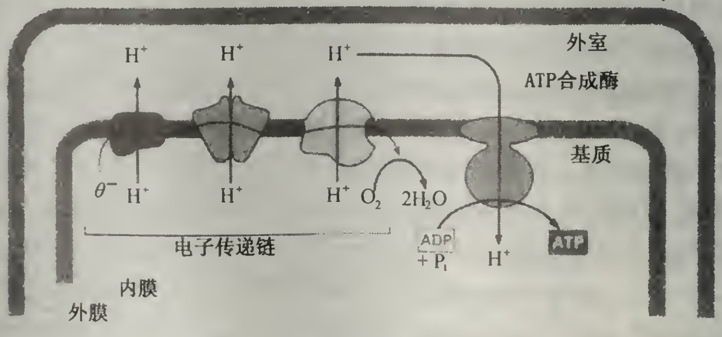


图 10－18　氧化磷酸化机制示意图

在高能电子穿过呼吸链过程中，3个呼吸酶复合物利用电子势能将质子从基质抽提到外室中。质子的电化学梯度驱动 H^+ 经 ATP 合成酶返回基质，ATP 合成酶则利用 H^+ 流的能量催化基质中的 ADP 和 P_i 合成 ATP

(2) 电子传递链中的载氢体和电子传递体相间排列。每当电子由载氢体传向电子传递体时，载氢体的氢即以 H^+ 的形式释放到内膜外，1 对电子在呼吸链中 3 次穿膜运动，向外室排放了 3 对质子。

(3) 内膜对 H^+ 和 OH^- 具有不可透性，所以随着电子传递过程的进行，H^+ 在外室中积累，造成了膜两侧的质子浓度差，从而保持了一定的势能差。

(4) 外室中的 H^+ 有顺浓度差返回基质的倾向，当 H^+ 通过 F_1-F_0 复合物进入基质时，ATP 酶利用了这种势能合成了 ATP。

(5) F_1-F_0 复合物需要 2 个质子合成 1 个 ATP 分子。

此学说的特点是强调膜的完整性。

最近一二十年来，有许多实验支持了化学渗透学说。具有代表性的实验有：

(1) 根据精确测定，随着线粒体呼吸作用的进行，外部介质的酸度也不断提高。这说明，有 H^+ 由线粒体基质向外流出，从而造成质子梯度和相应的膜电位。

(2) 缬氨霉素为 K^+ 的离子载体，有改变线粒体膜透性的作用，导致 K^+ 穿过内膜脂双层进入基质，结果降低或消除了内膜内外的电荷差。因此，在有缬氨霉素存在时，内膜的电子传递功能虽然保持正常，但 ATP 的合成却受到抑制，而且在一定氧耗情况下，ATP 的合成速率，与所剩的电梯度成比例。

(3) Stoekenius(1974) 等人曾用盐细菌 (*Halobacterium halobium*) 做过一个很精彩的实验。盐细菌的质膜上带有紫斑，紫斑的化学组成与视紫质类似。紫膜在受到光照后，可起质子泵的作用，可在膜内外造成 pH 和电梯度，按照化学渗透假说，这种梯度可用来驱动 ADP 磷酸化。为了验证这一梯度是否是细胞的能源，Stoekenius 等把含脂类的紫膜和由牛心线粒体提取的 ATP 酶组装成人工小泡，当这种小泡受到照射时，ADP 同 Pi 反应，合成了 ATP。实验有力地证明了，线粒体 ATP 酶利用了电化学梯度使 ADP 磷酸化(图 10－19)。

Mitchell 提出的化学渗透学说的核心是，电子在呼吸链中的 3 次穿膜运动，将 3 对质子从基质抽提到外室中，每次均有氢载体参加。但是第 3 次穿膜时的氢载体的性质不明确，Mitchell 便用 Q 循环把第 2 次和第 3 次合并在一起。因此，细胞色素氧化酶只起电子传递体的作用，而无质子泵的作用。后来芬兰科学家 Wikstrom (1980) 的大量实验表明，细胞色素氧化酶也具有质子泵的作用。于是有人主张，呼吸链上的 3 个回路是；NADH- 辅酶 Q 还原酶 (复合物 I)、辅酶 Q 细胞色素 c 还原酶 (复合物 III) 和细胞色素氧化酶 (复合物 IV) (图 10－20)。

实际上早在 Mitchell 提出化学渗透学说之前，学者们即已认识到 ATP 的合成是利用了电子传递所提

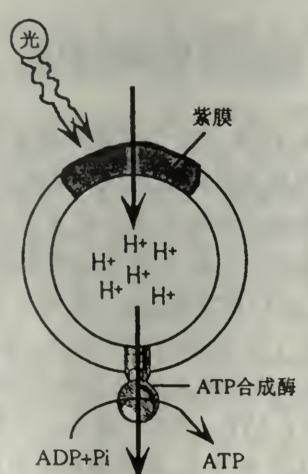


图 10－19　盐细菌紫膜光驱动 ATP 合成的机制示意图

由盐细菌紫膜与牛心线粒体 ATP 合成酶装配成的人工小泡，在光照下，紫膜向小泡内泵入质子，ATP 合成酶利用该电化学梯度势能合成 ATP

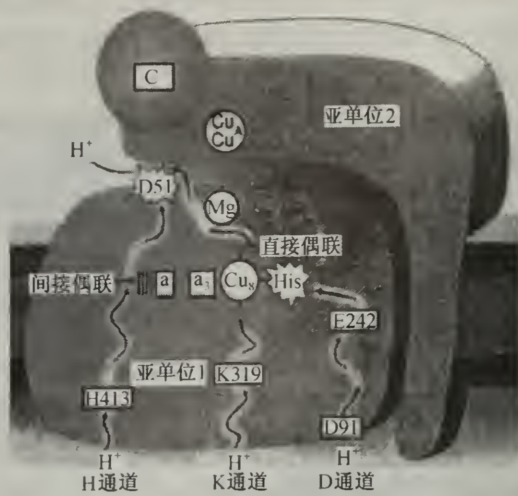


图 10-20　线粒体内膜中细胞色素 c 氧化酶的结构图解

细胞色素 c 氧化酶的亚单位 I 中有 H、K 和 D 三种质子传递通道。其中，H 通道一般存在于牛的氧化酶中，D 通道一般存在于细菌的氧化酶中。一个直接偶联的机制是通过 His 配体与 Cu_B，一个间接偶联的机制是通过 D51 残基

供的能量。一对电子由 NADH 传递到氧可释放出 220kJ(52.6kcal)的自由能，这些能量足够合成 3 个 ATP 分子[91.6kJ($3\times7.3=21.9$kcal)]。而且尚计算出，电子由细胞色素 c 传到 O_2 所释放出的自由能能够合成一个 ATP 分子，因此推导出，在电子传递过程中，第三个 ATP 分子的合成应发生在细胞色素氧化酶部位。Mitchell 的重大贡献在于，他提出了质子泵学说，阐明了电子传递链与 ATP 合成的偶联关系。Wikstrom 的工作则证明了 aa_3 复合物以具有质子泵作用，从而使化学渗透学说与电子传递的能量变化之间的关系取得了一致。

四、ATP 的合成和穿膜机制

ADP 和 Pi 在 ATP 合成酶的催化下合成了 ATP，可是 F_1 因子利用 [H^+] 的梯度使 ADP 和无机盐磷酸间建立共价键形成 ATP，仍然是一个疑难问题。P. Boyer 提出了构象变化假说来解释 F_1 因子在 ATP 合成中的作用原理。他认为，当质子穿过 F_1 因子的活性部位时可引起 F_1 颗粒的构象变化，导致底物(ADP 和 Pi)同活性部位的紧密结合和产物(ATP)的释放。这一模型主张，F_1 因子上有 2 个对称的催化部位，第一部位紧密结合着 1 个已合成的 ATP 分子，当第二部位结合上 ADP 和 Pi 时，引起 F_1 颗粒发生变化，使第一部位同 ATP 的亲和力下降，ATP 被释放。继之 ADP 和 Pi 同第二部位紧密结合，合成了 ATP。当第一部位上再度结合上 ADP 和 Pi 时，F_1 又发生构象变化，第二部位上的 ATP 被释放，两个催化部位如此交替反复进行工作。在此模型中，ADP 和 Pi 合成 ATP 的反应不需要能量，而 F_1 构象变化时要依赖能量供应，所需的能量一方面是用来使 ATP 同活性部位的结合由紧密状态变为疏松状态，便于释放 ATP，另一方面使 ADP 和 Pi 同活性部位的结合由疏松变为紧密，以利于 ADP 同 Pi 发生反应，合成 ATP。有证据表明，在 ATP 合成过程中，ATP 合成酶确实发生构象变化，但这种变化是否涉及到能量的吸收和释放，尚难于断定。

氧化磷酸化所需的 ADP 和 Pi 是由细胞质溶质（cytosol）输入到线粒体基质中的，而合成的 ATP 则要输往线粒体外，可是线粒体内膜具有高度不透性，因此这些物质的进出线粒体要依靠专门机构。线粒体内膜中有一些专一性运输蛋白同这些物质的进出线粒体有关。其中有一种为腺苷酸转移酶(adenine nucleotide translocase)能利用内膜内外的 H^+ 梯度势能差把 ADP 和 Pi 运进线粒体基质，而把 ATP 输往线粒体外(图 10－21)。

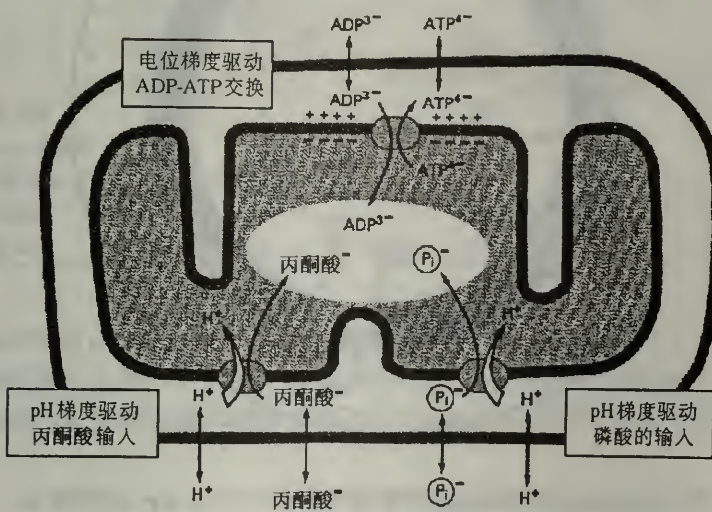


图 10－21　由质子电化学梯度势能驱动，跨线粒体内膜的主动运输过程

五、线粒体与疾病

多年来的临床诊断发现，线粒体缺陷与许多变性疾病、衰老和癌症有关。最早表明线粒体具有致病作用的是大约 40 年前对患有过度代谢的一位病人的报道，该病人的骨骼肌中含有大量异常的线粒体，现称为肌肉病(myopathy)。现已清楚，线粒体疾病也是困扰临床的难题之一，通常危及那些需能多的组织，如心脏、肌肉、肾脏和内分泌系统。线粒体疾病有多种遗传模式——母体遗传、孟德尔遗传或者二者组合。

在过去的 10 年中，对这些疾病的遗传和分子复杂性进行了深入的研究。第一个在分子水平上研究清楚的线粒体疾病是母体遗传性的 Leber 可遗传视觉神经病(LHON)，患者的突然失明是由线粒体 DNA 的一个错义突变引起视觉神经坏死造成的，同时引起的神经肌肉疾病，如慢性进行性外源性眼病(CPEO)和 Kearns-Sayre 综合征(KSS)是由线粒体 DNA 的缺失造成的。现在已经在各种变性疾病中鉴定出了 50 余种致病性的线粒体 DNA 碱基置换突变和数百种线粒体 DNA 重排突变（缺失和插入)。有些线粒体疾病还与核基因有关。核基因的失活，或者抑制线粒体生物能的产生，或者扰乱线粒体或线粒体 DNA 的生物发生。如 Friedreich 共济失调症就是一种常染色体隐性疾病，由于间接使氧化磷酸化失活或直接使线粒体 DNA 去稳定，可导致小脑共济失调、外周神经病和心肌肥大症。

现已在人线粒体 DNA 中鉴定出了许多致病突变，并确定了其在线粒体基因组中

的定位(图 10－22)。

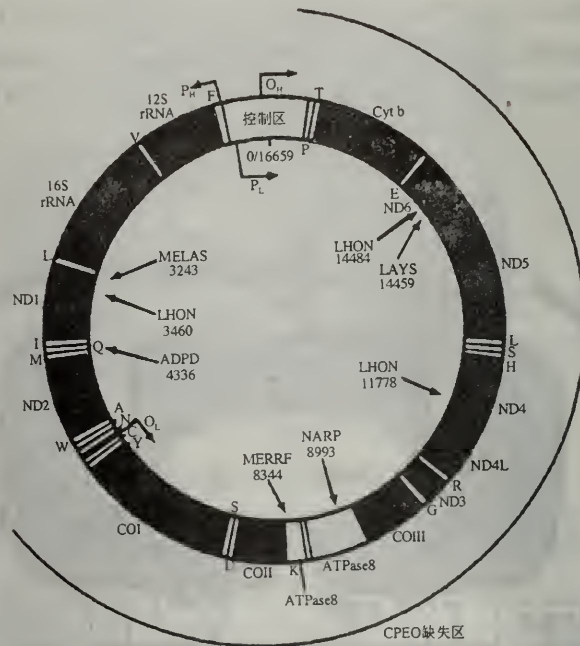


图 10－22　人线粒体基因组图谱,示部分致病突变在基因组中的定位

(a) 外侧所示为人 mtDNA 的编码产物: 编码复合物 Ⅰ 43 个亚基中的 7 个(ND1, 2, 3, 4, 4L, 5 和 6); 编码复合物Ⅲ11 个亚基中的 1 个(Cyt b, 细胞色素 b); 编码复合物Ⅳ13 个亚基中的 3 个(COI, II, III); 编码 ATPase 复合物 16 个亚基中的 2 个(ATPase6, 8); 编码大小 rRNA(16S, 12S rRNA); 编码 22 种 tRNA(白线区, 其旁的英文字母代表同族氨基酸)。(b) 内侧所示的为人 mtDNA 中的致病点突变, 用疾病的首字缩写和核苷酸的位置来表示。(自 Wallace 1999)

第五节　线粒体的半自主性

1963 年, M. Nass 和 S. Nass 在线粒体中发现了 DNA, 自此便引起学者对线粒体活动的重视。线粒体 DNA (mtDNA)呈环状,1 个线粒体基质中可含 1 至多套。线粒体越大,所含的 DNA 分子越多。mtDNA 也能进行复制,用 ^3H – 嘧啶核苷标记证明,其复制时间是由 G_2 期到细胞质分裂。但 DNA 的复制仍受核的控制,mtDNA 复制所需的聚合酶是由核 DNA 编码、在细胞质中合成的。

各个物种的 mtDNA 的大小不一,大多数动物的为 5. 5μm 长,而酵母的可达 26μm 长,7500 个碱基对。哺乳动物的 mtDNA 约含 16 500 个碱基对。植物细胞 mtDNA 要更大一些,为 200μm 的环,长达 6.5×10^5 个碱基对。高等植物的线粒体中,各个 mtDNA 环的碱基顺序不相同, 这使携带的信息大了若干倍。动物和酵母中, 线粒体中所含的 mtDNA 环都是一样的。哺乳动物 mtDNA 除编码线粒体 rRNA(12S 和 16S)和 22 种氨基酸 tRNA 外,仅能编码 13 种多肽链,这些多肽链均为氧化磷酸化的必需成分。线粒体基质中还含有同内膜结合的核糖体。酵母和链孢菌 (*Neurospora*) 的线粒体核糖体为 70S 类型的(和细菌的相似),而哺乳动物者则为 55S(由 35S 和 25S 两个亚单位组成),但后

者含蛋白质较多，故在体积上仍大于 70S 类型的。由此可见，线粒体拥有合成蛋白质的整套装置。可是，线粒体合成蛋白质的种类有限，只有 10 几到 20 几种。这些蛋白质包括有细胞色素氧化酶的 3 个大亚基，细胞色素 b-c_1 复合物的 1 个亚基，ATP 酶的几个亚基以及内膜的几种蛋白质。线粒体所需的其余大多数蛋白质，包括代谢酶类、DNA 聚合酶、RNA 聚合酶、核糖核蛋白、参与氧化磷酸化的其他酶类和 mtDNA 的调控因子（如线粒体转录因子 A），均是由核基因编码、在细胞质基质中合成的（表 10 – 4）。

表 10 – 4　酵母几种主要线粒体酶复合物的生物合成

酶复合物	亚基数		
	总数	细胞质核糖体合成数	线粒体核糖体合成数
细胞色素氧化酶	7	4	3
细胞色素 b-c_1 复合物	7	6	1
ATP 酶（寡霉素敏感）	9	5	4
核糖体大亚单位	30	30	0
核糖体小亚单位	22	21	1

我们可以看出，线粒体蛋白质大部分是由核控制，在细胞质中合成，只有一少部分是由线粒体本身所含的机构合成（图 10 – 23）。由此可见，线粒体的生长和增殖是受核基因组和线粒体基因组两套遗传系统的共同控制，因而线粒体被称为是半自主性

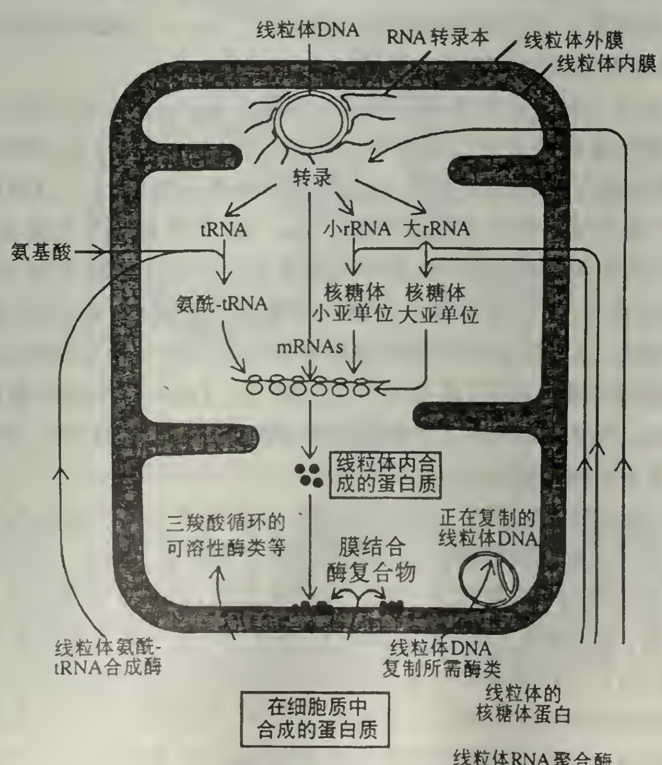


图 10 – 23　线粒体的半自主性图解

线粒体的生长与增殖所需要的大部分蛋白质是由核基因编码、在细胞质中合成的；仅有少部分蛋白质是由其自身基因编码、在线粒体内合成的

的细胞器。

线粒体也可以合成一些产物供细胞其他部位的需要。例如，线粒体中在 δ－氨基－γ－酮戊酸合成酶的催化下合成血红素。胆固醇转化成肾上腺皮质的甾类激素的代谢途径，最初几个步骤也是在线粒体酶的催化下进行的，以后的步骤是由光面内质网的若干酶催化进行的。

第六节　线粒体的发生

在细胞分裂过程中，母细胞中的线粒体大致被平均分配到两个子细胞中去。在间期中，线粒体的数目又增加。那么，增加的线粒体究竟是从哪里来的呢？对这一问题曾有 3 种见解。

有一种见解认为，新线粒体是由前体物质重新(De novo)合成的。有人发现，生长在缺氧条件下的酵母菌，没有完整的呼吸链(缺少细胞色素 b 和 a)。在电镜下观察表明，这种酵母 菌没有典型的线粒体。可是如果将酵母细胞放在有氧条件下生长，线粒体前体膜则发生融合，形成了含细胞色素的真正线粒体，这一现象似乎符合于重新合成的观点。

第二种见解认为，是由非线粒体膜装配而成的。线粒体外膜在化学组成上和内质网很相似，有的学者(De Robertis　1962)报道，曾观察到线粒体外膜和内质网膜相连。

第三种见解认为，是由原有的线粒体分裂、生长而来。用放射性胆碱对胆碱缺陷型链孢菌做实验证明，亲代细胞线粒体全部标记。每一子细胞中的线粒体也全被标记，只是所含的放射性仅为原来的一半。

为了验证上述三种观点究竟哪一种符合客观实际，Luck(1965)设计了一个实验。他用的材料为链孢菌胆碱缺陷型突变体 CHO1-1。细胞在胆碱浓度不同的培养液中培养，线粒体中磷脂蛋白质的比值不同。在低浓度胆碱氯化物(1μg/ml)中培养的细胞其线粒体的磷脂/蛋白质比值只为在高浓度(10μg/ml)培养液中生长者的一半。因而前者密度高(重)，后者密度低(轻)。如果将细胞先在低浓度胆碱培养液中培养，再换到高浓度培养液中培养，然后利用离心分离线粒体进行测定。结果表明，所形成的线粒体全部为中等密度。这说明新增的线粒体是由原有线粒体分裂而来的。这一结果也与电镜下直接观察到的现象相符(图 10－24)。1985 年，Frederic 用缩时摄影法观察了线粒体的分裂过程。当细胞中只有 1 个线粒体时，则在细胞核分裂之前，线粒体先分裂，2 个子细胞各得 1 个线粒体。

线粒体在分裂之前，要先有一个生长过程，这就需要从细胞质基质中运进一些蛋白质。线粒体蛋白是由游离核糖体在细胞质基质中翻译的。那么，它们又是如何被从众多的细胞质基质蛋白中分拣出来的呢？经研究发现，在线粒体蛋白的 N－端也存在有一段信号序列，称为导肽(leading peptide)，具有导肽序列的蛋白质便可被特异性地运往线粒体(图 10－25)。据线粒体蛋白导肽序列中不同片段所含有的导向信号不同，可被分别转运到线粒体的各个部位；在转运过程中，还需要一些分子伴侣(molecular chaperone)的协助，细胞质基质中的热休克蛋白 Hsp70、线粒体基质中的热休克蛋白 Hsp60 和线粒体膜间隙中的内膜插入蛋白 Tim10p 与 Tim12p 均是一些参与线粒体蛋白转运的分子伴侣分子。

线粒体在分裂时，先是在内部由和内膜相连的双层膜形成隔，隔把线粒体分隔为

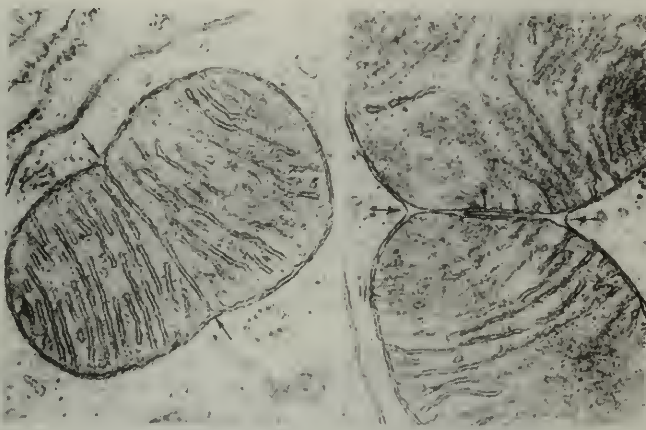


图 10-24 鼹鼠胃黏膜细胞中正在分裂的线粒体的电镜照片

线粒体在分裂时，先在分裂处形成隔(septum)(↑)，隔是由外膜一处向内凹陷延伸插入而成。随之，其余外膜沿分裂面缢陷，将线粒体不对称地分隔为两个(自 Kanaseki, T.)

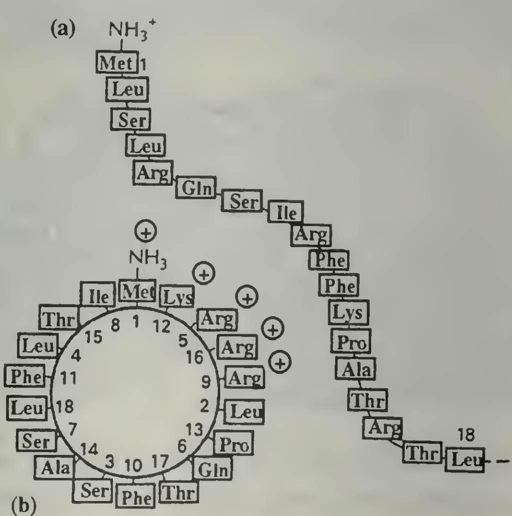


图 10-25 线粒体蛋白质特有的导肽序列

(a) 导肽的线性序列；(b) 导肽的折叠后的氨基酸残基的分布图

两部分，随后外膜有一部分内陷，插入到隔的双层膜之间，最后将线粒体分裂为两个子线粒体，这种分裂方式又称为间壁分裂(离)(图 10-26)。除间壁分裂外，线粒体还存在有收缩后分离和出芽两种分裂方式(图 10-27)。间壁分裂常出现于鼠肝和植物的分生组织中，收缩后分离为蕨类植物和酵母中常见的线粒体分裂方式，而线粒体的出芽增殖则常见于酵母和藓类植物中。

第七节 细菌的氧化磷酸化作用

细菌为原核生物，没有线粒体等细胞器，但是却能进行氧化磷酸化。细菌的呼吸链存在于质膜中，其许多组分和工作原理与线粒体内膜的呼吸链相同。二者的主要差

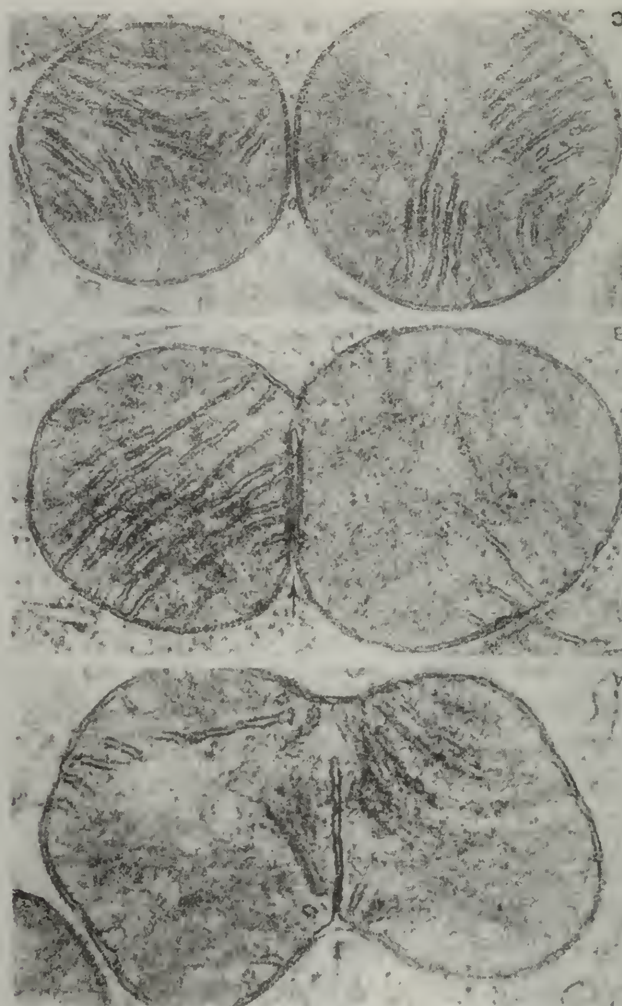


图 10 - 26　鼹鼠胃黏膜细胞中线粒体分裂过程的电镜照片(自 Kanaseki, T. 1981)

A. 发育中的隔尚款抵达细胞器对侧;B. 外膜内陷插入隔;C. 子线粒体完全分开

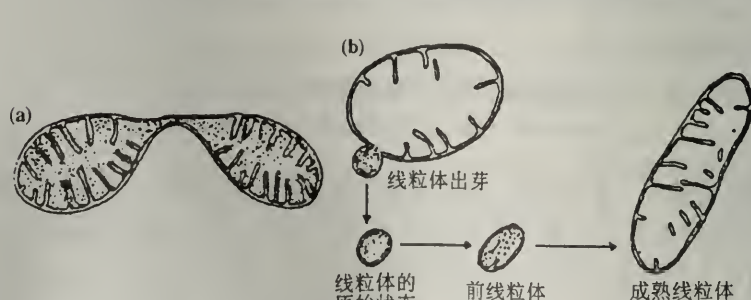


图 10-27　线粒体的另外两种分裂方式示意图

除间壁分裂外,线粒体还有如下两种分裂方式: (a) 收缩后分裂; (b) 出芽分裂

别是,细菌细胞中每对电子通过呼吸链只输出 4 个质子,可是在磷酸化时,也是每合成 1 个 ATP 分子要消耗 2 个质子。

细菌质膜中的呼吸链要比线粒体的简单。NADH 提供 1 对电子和 1 个 H^+。电子进

入呼吸链，交给了黄素腺嘌呤二核苷酸，即 FAD。FAD 结合有蛋白质，把 NADH 提供的 1 个 H^+ 和由细胞质中供给的 1 个 H^+ 一起输往质膜外，电子传递到铁硫蛋白，运往膜内侧，转给 1 个泛醌分子（CoQ）。CoQ 为一氢载体，从细胞质中摄取 2 个质子，生成氢醌。氢醌移到膜外，把 2 个质子释放到膜外，而把两个电子传递给 2 个细胞色素 b 分子。然后，电子穿膜返回膜内侧，经过细胞色素 b 传给细胞色素 o。细胞色素 o 再被氧分子所氧化。细胞色素 o 是细菌呼吸所特有的一种细胞色素，相当于线粒体呼吸链中的细胞色素 a（图 10－28）。

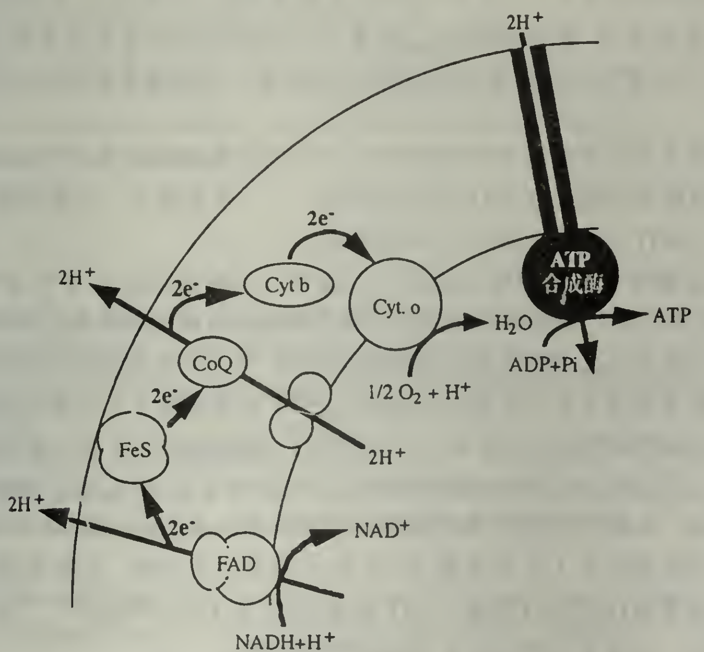


图 10－28 大肠杆菌的呼吸链系统示意图

每对电子的跨质膜传递可将细胞质中的 2 对质子抽到质膜外，每合成 1 分子 ATP 要消耗对 1 对质子

细菌中钠和钾的运输是顺质子梯度偶联进行的。乳糖和脯氨酸也是通过这种方式偶联运输。

提　　要

线粒体是广泛存在于真核细胞的细胞质中的一种膜围细胞器。线粒体经活体染色后在光镜下即可看到。线粒体的形态多种多样，一般多呈长条状；线粒体的数量也因细胞种类不同而差别很大，可从 1 个至 3×10^5 个，一般绿色植物细胞的线粒体数比动物细胞少。而线粒体的分布与供能活动有关，往往在需能部位比较集中。

电镜下显示出，线粒体是由两层单位膜围成，即外膜和内膜。内外膜之间隔有 6～8nm 的空隙，称为膜间隙或外室。由内膜围成的空间称为内室，所含物质称为基质。内膜向内室中伸出褶皱，称为嵴。嵴的基质面连结有直径约 8.5nm 的颗粒，即 F_1 颗粒。

线粒体各部分的化学组成是不同的，外膜的蛋白质与脂类含量之比约为 1∶1，而内膜则为 4∶1。外膜中含有 NADH－细胞色素 c－还原酶系统，其标志酶为单胺氧化

酶。外室中含腺苷酸激酶和核苷二磷酸激酶。内膜含有呼吸链和氧化磷酸化系统的酶类。基质中含有柠檬酸循环和脂肪酸氧化所需的酶类，以及 DNA、RNA 和蛋白质合成机构的各种成分。

线粒体最主要的功能是进行氧化磷酸化，把食物中含的化学能转化为高能磷酸键(ATP)。此外，线粒体还有贮存钙离子的作用。

氧化磷酸化需要有 O_2、ADP 和磷酸参加，形成的产物有 ATP、H_2O 和 CO_2。其整个过程是由三个步骤密切配合进行的；①三羧酸（柠檬酸）循环经一系列可溶性酶催化，使代谢脱羧和移去电子，产生 CO_2；②电子传递系统（呼吸链），将捕获的电子对经一系列电子 载体传递，最后同氧结合，形成 H_2O；③磷酸化系统和呼吸链密切偶联，合成 ATP。这 3 个步骤在线粒体中存在的部位不同，第一步在基质中进行，后两步在内膜上进行。

葡萄糖分子经过酵解和柠檬酸循环，有少部分能量形成了 ATP 和 GTP，而绝大部分能量则以辅酶 NADH 和 $FADH_2$ 形式回收。一个葡萄糖分子经糖酵解和有氧呼吸可产生 $6CO_2$、2ATP、2GTP、10NADH 和 $2FADH_2$。

还原型辅酶中所贮能量通过电子传递和氧化磷酸化而转变为 ATP 的高能磷酸键。在线粒体内膜上有许多整合蛋白可通过其辅基的氧化还原变化而传递电子。这些整合膜蛋白按氧化自由能逐渐降低的顺序排列，使电子在氧化反应中依序传递。这一系列电子载体组成了电子传递链(呼吸链)。电子传递链的 4 个主要呼吸酶复合物中有 3 个的自由能降低数值足以合成 1 个 ATP 分子。呼吸链从 1 个 NADH 接受 1 对电子能合成 3 个 ATP 分子，从 $FADH_2$ 接受的电子对可合成 2 个 ATP。电子最终被 O_2 接收，O_2 还原成 H_2O。在整个过程中，葡萄糖氧化所释放的自由能有 39% 用于合成 ATP。

ATP 的合成是在 ATP 合成酶(F_1 因子)的催化下进行的。ATP 合成酶在内膜上与另一组整合蛋白(F_0 因子)构成了 ATP 酶复合物，即 F_1-F_0 偶联因子。F_0 因子对寡霉素具有敏感性。F_0 因子中有允许 H^+ 通过的隧道结构。

Mitchell 的化学渗透学说认为，电子传递链和 ADP 磷酸化的偶联是通过在内膜内外造成了电化学质子梯度进行的。内膜对 H^+ 和 OH^- 是不透的。电子传递链相当于质子泵，在电子传递过程中，不断把基质中的 H^+ 抽提到外室中，从而把电子传递释放出的能量转化为势能差，这种势能可表示为质子动力(ΔP)。H^+ 通过 F_0 因子隧道进入基质时，其能量被 F_1 因子用来合成 ATP。

电子传递链中的各个成分在内膜上具有一定的空间排列顺序。电子传递链中各个成分除 CoQ 外均为蛋白质。这些蛋白质中只有细胞色素 c 为边周蛋白，其他均为整合蛋白。利用温和去垢剂可把电子传递链分离为 4 种复合物，即 NADH-Q－还原酶复合物(I)、琥珀酸－Q－还原酶复合物(II)、QH2－细胞色素 c－还原酶复合物(III)和细胞色素 c－氧化酶复合物(IV)。一对电子经过 4 种复合物的传递，可将 3 对 H^+ 由基质抽提到外室。Mitchell 认为，质子载体和电子载体在呼吸链中相间排列，在复合物 I 排出 1 对质子，在复合物 III 处排出 2 对质子。当 1 对质子由外室通过 F_1-F_0 偶联因子进入基质时，ATP 合成酶便催化合成 1 分子 ATP。因此，1 对电子传递所造成的电化学梯度势能可合成 3 个 ATP 分子。

线粒体是一种半自主性的细胞器，在其基质中含有环状 DNA 分子和蛋白质的合成机构。其 DNA 有为多种多肽以及所需 rRNA、tRNA 编码的基因，如 ATP 合成酶编码的基因等。而构成线粒体的其他蛋白质则是由核基因组编码、在细胞质中合成的。

线粒体的增殖是通过分裂进行的,其分裂活动与细胞分裂不同步。

复习思考题

1. 线粒体的各部分结构分别与哪些代谢反应有关?
2. 用什么方法可以证明线粒体的电子传递和氧化磷酸化分别是由两个不同的结构体系来承担 的?
3. 试设计一个实验,证明线粒体合成 ATP 的能源来自于内膜两侧的质子浓度梯度差。
4. 为什么说线粒体是一个半自主性的细胞器?
5. 证明新生线粒体是由原有线粒体分裂而来的证据是什么?
6. 线粒体与细胞凋亡有何关系? 它是如何参与并启动细胞进入死亡程序的?
7. 线粒体内所贮存钙离子的浓度的改变对线粒体和细胞质基质有何影响?
8. 通过本章的学习,你对线粒体在细胞的生命活动中所处的地位是如何理解的?
9. 细菌的呼吸链与线粒体有何异同点?

主要参考文献

汪堃仁、薛绍白、柳惠图,1998. 细胞生物学. 北京:北京师范大学出版社,167~203

杨福愉,1985. 有关化学渗透学说的一些争议. 生物化学与生物物理学进展,2:2~8

尤复翰,1982. 细胞呼吸作用的机构和组成:呼吸作用的能量转化机制. 白细胞的运输与细胞的能源,南京:江苏科技出版社,136~162

翟中和,1996. 细胞生物学. 北京:高等教育出版社,149~170

Alberts, B. et al., 1994. Molecular Biology of the Cell. New York and London. Garland Publishing InC., 653~720

Berry, M. N. & Halls, H. J. , 1992. The Mitochondrion. from "Fundamentals of Medical Cell Physiology", JAI Press Inc., 4: 213~282

De Robertis & De Robertis, 1979. Mitochondria, from "Cell Physiology". W. B. Saundes Company, Philadelphia. 136~146

Iwata, S. et al., 1998. Complete Structure of the 11-Subunit Bovine Mitochondrial Cytochrome bc1 Complex. Science, **281**: 64~71

Karps, G., 1984. Cell Biology, 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York. 309~345

Koehler, C. M. et al., 1998. Import of Mitochondrial Carriers Mediated by Essential Proteins of the Intermembrane Space. Science, **279**: 369~373

Rizzuto, R. et al., 1998. Close Contacts with the Endoplasmic Reticulum as Determinants of Mitochondrial Ca^{2+} Responses. Science, **280**: 1763~1766

Smith, J. L. , 1998. Secret Life of Cytochrome bc1. Science, **281**: 58~59

Susin, S. A. et al., 1999. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. Nature. **397**: 441~445

Wallace, D. C. , 1998. Mitochondrial Diseases in Man and Mouse. Science, **283**: 1482~1488

Yosikawa, S. et al., 1998. Redox-Coupled Crystal Structural Changes in Bovine Heart Cytochrome c Oxidase. Science, **280**: 1723~1729

Green, D. R. & Reed, J. C. , 1998. Science, **281**: 1309

Brustovetsky, N. & Klingenberg, M. , 1996. Biochemistry, **35**: 8483

Marzo, I. et al., 1998. Science, **281**: 2027

第十一章

叶绿体与光合作用

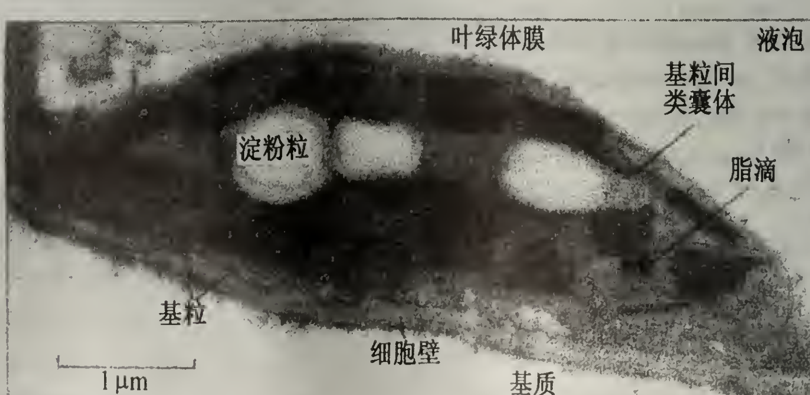
在植物细胞和光合菌类中，除含有线粒体外，还含有另外一种能量转换细胞器，即叶绿体(chloroplasts)。叶绿体对生物界的存在和进化有着重大贡献，其主要功能是吸收光能合成碳水化合物，同时产生分子氧，这一过程称为光合作用(photosynthesis)。叶绿体所捕获的光能转化成化学能，贮存到碳水化合物中，碳水化合物是生物界中能量循环链的起点。叶绿体也含有自身的DNA，也是细胞内的一种半自主性的细胞器。

在高等植物中，叶绿体是质体的一种，含有叶绿素。除了叶绿体以外属于质体的还有白色体(leucoplast)。白色体不含色素，多存在于根和芽的幼嫩细胞中。有些白色体，含有大量的淀粉，则成为造粉体(amyloplast)。还有的质体含有黄色或红色的色素，称为有色体(chromplast)。如含有番茄红素的有色体使番茄的果实显现红色。质体的种类虽然有若干种，但它们都是由一种前体发育而来，这一前体为前质体(proplastid)。

叶绿体是发现最早的细胞器。17世纪 Antonie Van Leeuwenhoek(1676) 即对叶绿体做过描述。1883年，Schimper 首先使用了质体一词，并认为质体是由原有的质体产生而来。Meyer(1883) 持了这一主张，并且他还在某些有花植物如兰花的叶绿体中发现了绿色的小颗粒，把其命名为基粒(grana)。关于叶绿体的细微结构只有在发明了电镜之后，才进入了深入细致的观察。

第一节　叶绿体的形态、大小

在高等植物中，叶绿体在光镜下为椭圆形或梭形的绿色颗粒；在电镜下为扁平的椭圆形或卵圆形(图 11－1)，可是，一些低等植物，特别是藻类，各个物种的叶绿体形状可差别很大，如水绵的叶绿体为螺旋带状，衣藻的叶绿体为杯状，双星藻的叶绿体则为星形，丝藻的叶绿体为带孔的板状(图 11－2)。



(a)

图 11－1　叶绿体的电镜图像及其不同形态示意图

(a) 电镜图像；(b) 侧面观的形态；(c) 表面观的形态

叶绿体的数目因植物的种类、细胞种类和生理状态不同而差异很大。一般来说,高等植物的叶肉细胞中,一般有 50~200 个;陆生植物一般含有多个,如菠菜的栅栏薄壁细胞含有 20~40 个叶绿体;而藻类通常只有一个巨大叶绿体。当叶绿体数量不足时,则通过分裂而增多。

叶绿体的大小也有很大的差别, 高等植物叶绿体的平均直径为 4~10μm, 厚 2~4μm。同一植物生存的环境不同,其叶绿体的大小和数目均不相同。与生长在向阳处的相比, 一般生长在背阴处的植物的叶绿体要大些, 数目也要多一些, 甚至叶绿素含量也会多一些。

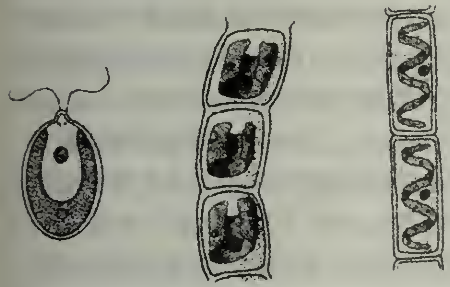


图 11-2 三种绿藻中叶绿体的特殊形状
(a) 衣藻; (b) 丝藻; (c) 水绵

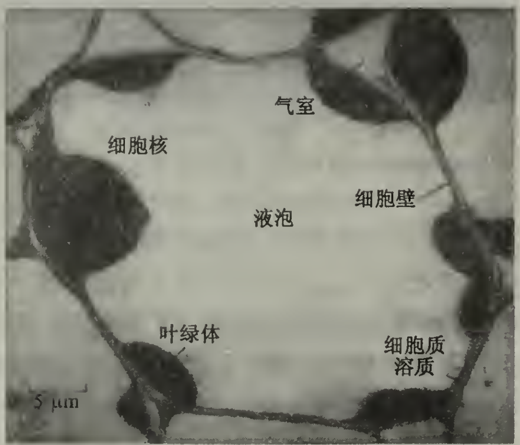


图 11-3 叶绿体沿细胞壁分布的电镜图像

叶绿体通常分布在细胞核的周围, 或靠近细胞壁处, 但有时也在细胞内呈均匀分布(图 11-3)。

下面我们主要以高等植物的叶绿体为例,来讨论叶绿体的结构与光合作用的机制。

第二节 叶绿体的超微结构

在电镜下,叶绿体为双层单位膜围成的细胞器,由外被、类囊体(thylakoid)和基质(stroma)三部分构成。双层单位膜又称为叶绿体外被; 内、外两层膜之间有一个厚约 20nm 的空隙,称为膜间隙 (intermembrane space); 内膜所包围的空间内充有无结构的物质, 称为基质(stroma)。基质中悬浮有由膜围成的类囊体(thylakoid)。类囊体内的空隙, 又称为类囊体腔。

一、叶绿体被膜

由外、内双层膜组成, 每层膜厚约 6~8nm, 其间的间隙厚约 10~20nm。外膜的通透性大,细胞质中的大多数营养分子如核苷、无机磷、磷酸衍生物、羧酸类物质和蔗糖等均可自由穿过外膜进入膜间隙; 内膜对穿运物质有严格的选择性, 物质不能自由穿过内膜进入基质, 必须依靠其上的特殊载体才能将物质从膜间隙转运至基质中, 如磷酸、磷酸甘油酸、苹果酸、草酰乙酸、天冬氨酸等。

二、类囊体

类囊体是沿叶绿体的长轴平行排列的由膜围成的圆盘状扁囊。在一定部位许多圆盘状的类囊体成摞存在，很像一摞硬币，这种成摞存在的类囊体构成了基粒(grana)(图 11-4)。因此，形成基粒的类囊体称为基粒类囊体。基粒类囊体的直径约为 0.25~0.8μm，厚约 0.01μm；而连接于基粒之间由基粒类囊体延伸出的非成摞存在的呈分枝网管状(frets)或片层状类囊体称为基质类囊体或基质片层（stroma lamellae），其内腔与相邻基粒的类囊体腔是相通的。一般一个叶绿体中约含有 40~80 个基粒，而一个基粒约由 5~30 个基粒类囊体组成，最多可达上百个。但因植物种类不同以及细胞所处的部位不同，其基粒中的基粒类囊体数量也会有很大差异。事实上，基质中的整个膜系统是由一层连续的膜折叠而成的，其内腔是完全相通的(图 11-5)。



图 11-4　叶绿体基粒的电镜图

图片中示两个基粒的各一部分，箭头指类囊体腔，两个基粒间有类囊体腔相通，基质中的圆形颗粒为叶绿体 DNA(自 Nir, I. et al.)

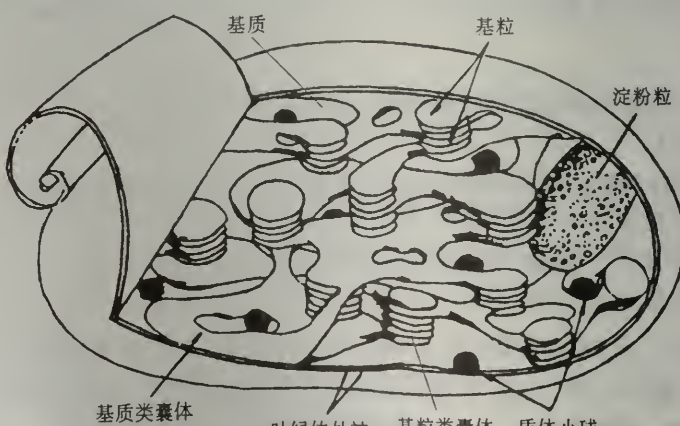


图 11-5　叶绿体三维结构的模式图解(自汪德耀等　1998)

类囊体膜中含有叶绿素，是绿色植物进行光合作用的基地。在叶绿体中形成类囊体结构，使膜片层的总面积大大超出了叶绿体的面积，从而有利于光反应效率的提高。例如，20 个类囊体(每一个的直径约为 0.25μm)的总面积即可达 400μm^2。由于相邻基粒的类囊体经网管或扁囊相连，类囊体腔彼此相通，因而一个叶绿体的全部类囊体实际上是一个完整连续的封闭膜囊。在发育成熟的叶绿体中，类囊体膜并不和叶绿体的内膜相连，类囊体膜在基质中形成了独立的膜囊系统。

叶绿体类囊体片层与线粒体内膜一样在结构上也是很不对称的。用磷钨酸做负染色显示出，在类囊体膜与基质接触的外表面上，分布着许多颗粒状结构，Howell 和

Mondvianakis(1967) 证明，这些颗粒可分为两类，一类为直径 12nm 的方形颗粒，用水可洗脱，系核酮糖 -1，5- 二磷酸羧化酶（ribulose-1，5-bisphosphate carboxylase，简称 RuBPcase），RuBP 羧化酶大部分存在于基质中；另一类颗粒呈 5～6 角形，直径约 10nm，可为 EDTA 所洗脱，系 ATP 合成酶 (CF_0-CF_1 因子)，它由跨膜的 CF_0 和起催化作用的 CF_1 构成(图 11－6)。CF_1 因子与线粒体嵴上的 F_1 因子一样，也具有 ATP 酶活性，在光合磷酸化中可催化 ADP 磷酸化为 ATP。但 CF_1 因子对能量传递抑制剂寡霉素不敏感，其酶活性不为寡霉素所抑制。以上两种颗粒均为蛋白质所组成，前者为类囊体膜的边周膜蛋白，后者为整合膜蛋白。

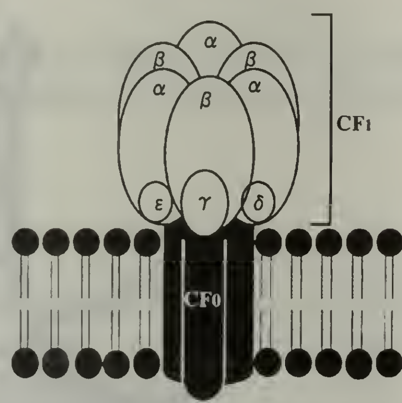


图 11－6 叶绿体 ATP 合成酶的结构示意图

在 ATP 合成酶中，CF_0 至少由 3 个亚基组成，为质子通过类囊体膜的通道（由 8kDa 肽链的 6 聚体组成）；CF_1 由亚基 α3、β3、γ、δ、ε 共 9 个亚基组成，具有 ATP 酶活性，在 α 和 β 亚基上有 ATP、ADP 的结合部位与催化部位，γ 亚基能控制质子的流动，δ 亚基负责与 CF_0 结合，ε 亚基在无光的条件下能抑制此 ATP 合成酶的活性、防止 ATP 水解而造成浪费。但 CF_1 的 ATP 合成酶活性的激活需要巯基化合物和 Mg^{2+}。

类囊体膜中还嵌插有与光合作用有关的叶绿素－蛋白质复合物颗粒。用冰冻断裂法显示出，类囊体膜本身两半所含的颗粒不同，而且基粒类囊体膜向着基质的一半中，在叠置区（即两层类囊体膜相并拢的区域）与非叠置区的颗粒分布状况也是不一样的。类囊体膜经冰冻断裂之后，显示出两层断裂面上的颗粒大小和分布状况不一样。在靠近基质的类囊体膜表面上存在有大量的小颗粒，直径约为 10～13nm，具有光系统 I(PSI)活性。在不靠近基质的类囊体膜上存在有直径大于 10～18nm 的大颗粒，数量较少，这些大颗粒具有光系统 II(PSII)活性。此处叠置面上所含的大颗粒曾被 Park 等人称为光能转化体(quantasome)。而在非叠置面上，大颗粒极少，根据对类囊体膜碎片分析，基粒类囊体和基质类囊体上均分布有大量的 PSI，而 PSII 主要分布于基粒类囊体上(图 11－7)。类囊体膜中 PSI 和 PSII 的分布在光合作用的电子传递和 ATP、NADPH 的产生方面起着重要作用。

细胞色素 b 复合物在类囊体膜上也呈均匀分布。另外类囊体膜还含有捕光天线色素、各种电子载体和参与光反应的各种酶等。

三、基质

基质为叶绿体外被和类囊体之间的无定形物质，主要为一些可溶性成分，也含有一些有形成分。可溶性成分主要包括一些酶类，如催化暗反应的各种酶等；有形成分包括核糖体、DNA、RNA、淀粉粒、质体小球、植物铁蛋白(幼体时贮存铁)和大量的 RuBPcase 颗粒等。其中，核糖体直径约为 15～20nm，属于 70S 类型；DNA 纤丝呈环状，粗细约 2.5nm；RuBPcase 颗粒的直径约 10～20nm，为一种与固定 CO_2 有关的酶，固定 CO_2 的第一步反应是利用 RuBP 和 CO_2 来合成两分子的磷酸甘油酸。

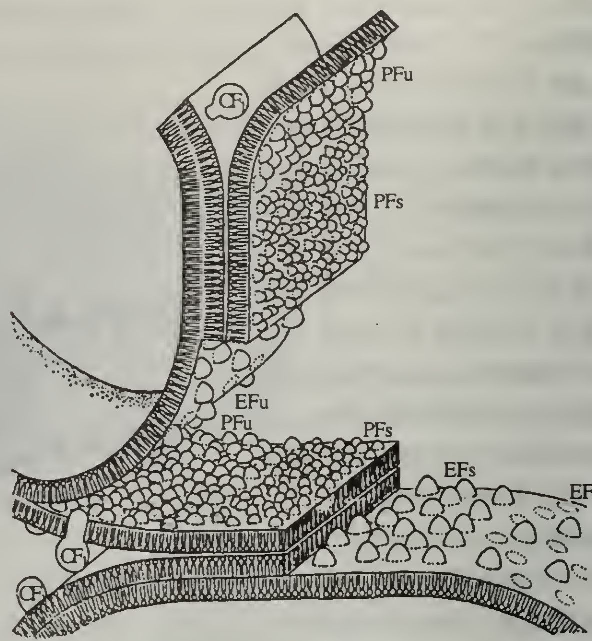


图 11－7　用冰冻蚀刻法所暴露出的类囊体膜的各个面的形态示意图

P. 原生质面; S. 叠置(stack)部; U. 非叠置(unstack)部; EF. 内面(背原生质面); PF. 基质面(向原生质面)

第三节　叶绿体的化学组成

叶绿体主要的化学成分为蛋白质、脂类、DNA、RNA、不等量的碳水化合物以及一些无机离子如 Fe 和 Mn 等。基质中蛋白质成分占了 50% 以上。根据对菠菜的叶绿体进行分析表明,总蛋白质含量为 69%（表 11－1）。叶绿体的不同结构区域,其化学组成差异较大，即各种成分在类囊体与基质中的含量是不一样的。DNA 和 RNA 均存在于基质中。

表 11－1　菠菜叶绿体的化学组成

成　分	叶绿体干重的百分值(%)	
	水分离的叶绿体	用丧失的可溶性蛋白校正后的数值
总蛋白	50	34
水不溶性蛋白	50	8
水溶性蛋白	0	1.1
总脂类	69	21
叶绿素	31	5
类胡萝卜素	38	0.7
RNA	-	1.0~7.5
DNA	-	0.02~0.1
碳水化合物	不　定	

一、叶绿体被膜

主要成分为蛋白质和脂类。蛋白质成分中主要为一些酶类，如 ATP 酶、腺苷酸激酶、半乳糖基转移酶及参与糖脂合成的酶类如酰基辅酶 A 等；脂类成分中以糖脂和磷脂最多。

二、类囊体

类囊体膜亦是由脂双分子层组成的单位膜，内嵌有多种蛋白质分子。在类囊体膜中，蛋白质约占 60%，脂类仅占 40%。

1. 脂类

类囊体膜中的脂类包括有半乳糖、叶绿素，类胡萝卜素，以及甘油二酯、甾类、磷脂、硫酸脂等(表 11－2)，其中乳糖脂约占总膜的 40%。但是，基粒类囊体膜与基质类囊体膜在化学组成上又有量的差别(表 11－3)。这种差别导致两部分膜在功能上有所不同。

表 11－2　菠菜类囊体膜的脂类组成

成　分	占总脂重量的百分数(%)
单半乳糖甘油二酯	26.8
二半乳糖甘油二酯	13.7
硫酸脂	4.1
磷脂	9.1
叶绿素 a	15.0
叶绿素 b	5.8
类胡萝卜素	2.8
醌化合物	3.3
甾类	2.2
未定性的脂	17.0

2. 蛋白质

类囊体膜中的蛋白质可分整合膜蛋白 (integral membrane protein) 和边周膜蛋白(peripheral membrane protein)两类。整合膜蛋白镶嵌在脂双分子层中，提取比较困难。类囊体膜向基质的游离面，边周膜蛋白较多，而相邻类囊体的并列面上则较少。CF_1 因子即为一边周膜蛋白。还有一些蛋白质系与光合作用的光反应(ATP 产生和还原物的形成)有关的酶。

CF_1 因子呈球形，直径为 10nm，*M*r 为 325kDa，很易为 EDTA 洗脱。CF_1 因子由 α、β、γ、δ 和 ε 5 种肽链亚基组成，其 *M*r 分别为 59、56、37、17 和 13kDa。CF_1 因子和线粒体的 F_1 因子一样，也具有 ATP 酶活性，但与 F_1 因子的特性相比，又有所不同：CF_1 因子的激活需要有硫氢基化合物如二硫苏糖醇的存在，同时还需要有 Mg^{2+}，且 CF_1 因子的活性不为寡霉素所抑制。

类囊体膜中的整合膜蛋白均为电子或质子的载体蛋白，主要有细胞色素、质体醌、质体蓝素、铁氧化还原蛋白、黄素蛋白及 PSI、PSII 等。这些蛋白质与膜结合牢固，须用

表 11－3　基质片层和基粒片层的主要成分

（各种成分对每克膜蛋白的相对微摩尔数值）

成　　分	基 质 片 层	基 粒 片 层
总叶绿素	278	401
叶绿素 a	238	281
叶绿素 b	40	130
P700	2.5	0.6
β-胡萝卜素	21	17
叶黄素	10	29
紫黄质	15	20
新叶黄素	8	16
磷脂	76	66
单半乳糖甘油二酯	231	214
二半乳糖甘油二酯	172	185
硫酸脂	65	59
细胞色素 b	1.0	3.4
细胞色素 f	0.5	0.7
锰	0.3	3.2

去垢剂提取，先把 CF_1 色素和脂类去掉后，再用阴离子去垢剂十二烷基硫酸钠（sodium dodecyl sulphate, SDS）提取蛋白质。经 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析，发现有 20 余种多肽，相对分子质量介于 10～100kDa 间。如果事先不去掉色素，用 SDS 凝胶电泳可分离出两种叶绿素－蛋白质复合物（chlorophyll-protein complex, CP），即 CPI 和 CPI-I。CPI 与光系统 I（photo system I, PSI）的活性有关，约由 12 种多肽组成，占总膜蛋白的 28%，CPI 中的叶绿素 a 的含量较高，叶绿素 a 与叶绿素 b 之比为 12∶1（图 11－8a）。CP II 与光系统 II（Photo system II, PS II）的活性有关，是一种主要的叶绿素复合物，约由 16 种多肽组成，占总膜蛋白的 50%，CP II 的叶绿素 a 与叶绿素 b 之比为 1∶1（图 11－8b）。

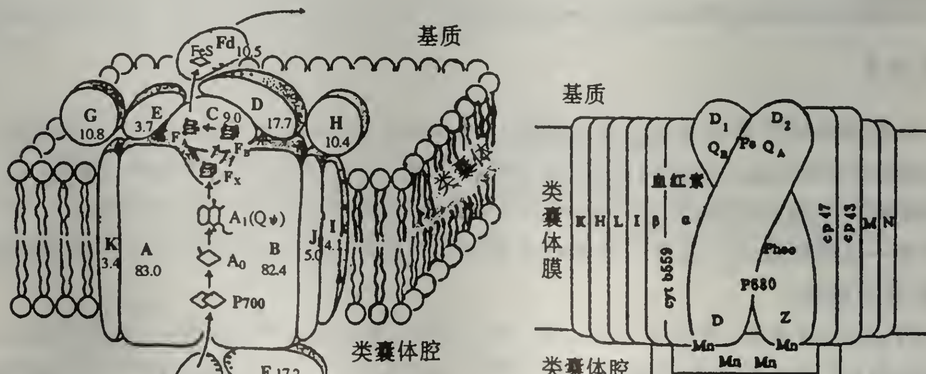


图 11－8　PSI 和 PSII 复合物的结构及其与基粒类囊体膜的关系图解

(a) PSI 复合物：由 12 个不同的多肽链亚基组成，其中亚基 A 和 B 组成了反应中心（自 Abrol, Y. P. 1992）；

(b) PSII 复合物：由 13 个跨膜的多肽亚基和 3 个边周多肽亚基组成，

其中亚基 D_1 和 D_2 组成了反应中心（自 Barber, J. 1992）

此外，类囊体膜中的内在蛋白还有细胞色素、质体醌（plastoquinone）、质体蓝素（plastocyanin）（含有铜的蛋白质）和铁氧化还原蛋白（ferredoxin）（属铁硫蛋白）以及黄素蛋白（铁氧化还原蛋白 $NADP^+$ 还原酶）。细胞色素按光谱可分为四种：细胞色素 553(f)、细胞色素 563(b)、细胞色素 b-559 HP(高电位型)和细胞色素 b-559LP(低电位型)。

三、基质

类囊体的片层结构均是悬浮于叶绿体基质中。基质主要为一些可溶性蛋白成分，其中大约 60% RuBPcase。RuBPcase(560kDa) 由 8 个大亚基 (56kDa) 和 8 个小亚基 (14kDa) 构成，每个大亚基上均含有一个催化部位和一个调节部位，基质中还含有一些有形成分，如核糖体、DNA、RNA、淀粉粒、质体小球和植物铁蛋白(phytoferritin)等。叶绿体基质中的核糖体大小为 70S，DNA 的含量低，每个叶绿体中为 $10^{-15} \sim 10^{-14}$g。约占叶绿体干重的 0.03%。叶绿体 DNA 为环状分子，长约 150nm，每个叶绿体中含有 20～60 个拷贝。DNA 分子通常总是靠近或附着在叶绿体内膜上。基质中含有的 RNA，大部分为组装成核糖体的 rRNA，其他为 mRNA 和 tRNA 质体小球和植物铁蛋白分别与脂类和铁的贮存有关。

四、电子载体在类囊体膜中的分布

类囊体膜亦具有两种属性，即流动性和不对称性。膜的不对称性除了表现在外表面有外在蛋白分布外，还表现在膜内在蛋白中电子传递载体的不对称排列。用免疫学方法证明，PSI 的电子受体（铁氧化还原蛋白、铁氧化还原蛋白 -NADP 还原酶）位于膜的外半层，而 PSI 的电子供体（细胞色素 f 和质体蓝素）则位于膜的内半层（图 11－9）。

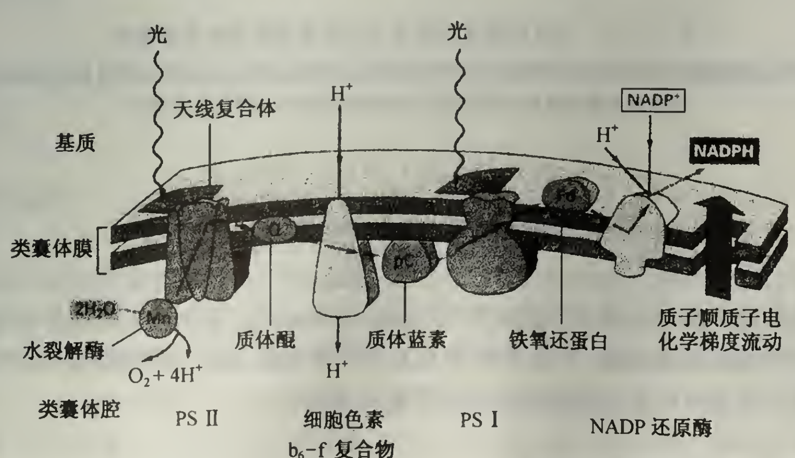


图 11－9　光合作用过程中电子沿类囊体膜中的电子传递链传递

电子传递链中的可移动电子载体是：质体醌（类似泛醌）、质体蓝素和铁氧还蛋白。细胞色素 b_6-f 复合物相当于线粒体中的细胞色素 b-c_1，它是叶绿体电子传递链中唯一起质子泵作用的部位。水氧化释放出的 H^+ 参与膜内外 H^+ 电化学梯度的形成，也被 $NADP^+$ 摄取形成 NADPH

大部分叶绿素分子是和蛋白质结合在一起，形成叶绿素－蛋白质复合物。分离出的这类复合物有三种：PSI 复合物、PSII 复合物和捕光复合物（Light harvesting complex，LHC）。PSI 和 PSII 称为光合作用单位（photosynthetic unit）。每一单位是由 250～300 个色素和载体分子组成，并含有一个称为反应中心（reaction center）的叶绿素 a 分子。反应中心叶绿素 a 分子势能较低，可比其他叶绿素 a 分子吸收较长波长的光能，它能把电子传递给某一化学受体。PSI 的反应中心叶绿素 a 分子为 P700（P 代表色素；700 为吸收波长，单位为 nm）。PSII 的反应中心叶绿素 a 分子为 P680。捕光叶绿素－蛋白质复合物（light-harvesting chlorophyll protein complex，LHC）又称天线复合物（antenna complex），它所含的叶绿素量为类囊体叶绿素总量的 40%～60%。LHC 无光化学活性，它只是把光能传递给 PSII（可能还有 PSI）。PSII 主要分布在基粒类囊体膜背向原生质的断裂面上的叠置区中（EFs），正常情况下，约有 80%～85% 分布在 EFs 上，只有 15%～20% 分布在 EFu 上。而 PSI 则在基粒类囊体和基质类囊体膜上均有分布，且主要分布在 PFu 上（图 11－10）。K. P. Miller 等认为，在基粒类囊体膜的叠置区，含有 PSII 的颗粒横穿类囊体膜，并与相并列膜中的含有 PSI 的小颗粒相接触。

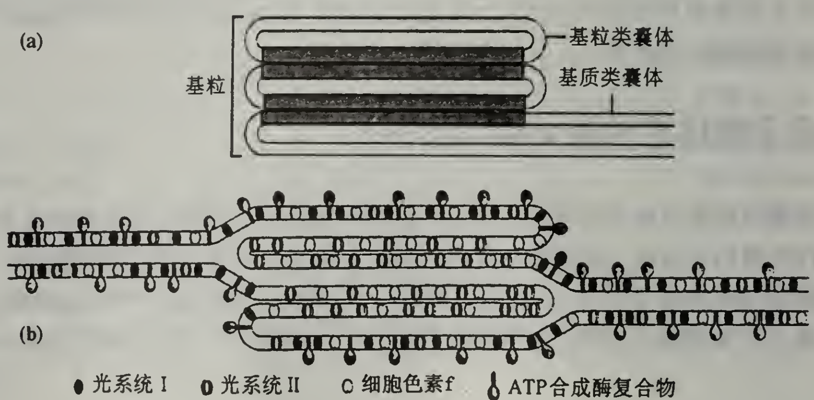


图 11－10　光合作用复合物在不同类囊体膜中的分布图解
(a) 示基粒类囊体膜的基质接触区（暗色区域）和非接触区（亮色区域）；(b) 几种主要的光合作用复合物在基粒类囊体膜的不同区域及基质类囊体膜中的静态分布情况

第四节　光合作用

叶绿体的主要功能是进行光合作用（photosythesis）。光合作用是指绿色植物通过细胞内的叶绿体吸收光能，利用 H_2O 和 CO_2 合成碳水化合物，同时释放 O_2 的过程。从本质上讲，光合作用是把光能转换成化学能的过程。

一、光合作用的基本过程

光合作用是把光能转化为化学键能的过程。光合作用的总反应式可表示为：

$$nH_2O + nCO_2 \xrightarrow{光} [CH_2O]_n + nO_2$$

这一总反应过程所涉及的变化是极其复杂的，根据是否需要光能又可将其分为两套复杂的化学反应系列。一套称为光反应（light reaction），在叶绿体的类囊体膜上进行，需要光能，所吸收的光能被用来形成 ATP，水分子裂解放出氧和氢，氢则被用来还原 NADP，形成了 $NADPH_2$。第二套称为暗反应（dark reaction），在叶绿体基质中进行，不需要光能，可利用光反应中产生的 ATP 和 $NADPH_2$，使 CO_2 还原，合成了碳水化合物。由此可见，光合作用中光反应和暗反应密切配合连续进行，有效地把光能转化成了化学能，将能量固定在碳水化合物中（图 11－11）。

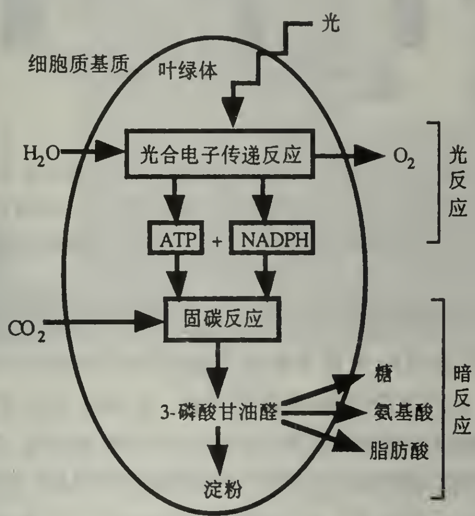


图 11－11 叶绿体中光合作用的两个反应过程图解

二、光反应

光反应过程复杂，根据反应的先后顺序又可分原初反应、电子传递和光合磷酸化三个阶段。

（一）原初反应

原初反应包括光能的吸收、传递和转换三个环节。叶绿体中的叶绿素分子可分为捕光叶绿素（light harvesting chlorophyll）和反应中心叶绿素（reaction center chlorophyll）两种。①捕光叶绿素能吸收光能，但没有光化学活性，又名天线叶绿素（antenna chlorophyll），包括叶绿素 a、b 和类胡萝卜素（胡萝卜素和叶黄素），在细菌和藻类中还有藻胆素和叶绿素 c；②反应中心叶绿素有光化学活性，由一种特殊状态的叶绿素 a 分子组成，根据其最大吸收峰不同，又分为 P700 和 P680，P700 为光系统 I（PSI）的中心叶绿素，P680 为光系统 II（PSII）的中心叶绿素。能将光能汇集给反应中心的结构称为天线复合物。

捕光叶绿素和反应中心构成 1 个光合作用单位（photosynthetic unit）。反应中心又

由 1 个中心叶绿素分子、1 个电子供体和 1 个电子受体组成(图 11 – 12)。PSI 的反应中心由 P700、质体蓝素(电子供体)和一种铁氧还蛋白(电子受体)组成;PSII 的反应中心则由 P680、水(电子供体)和质体醌(电子受体)组成。

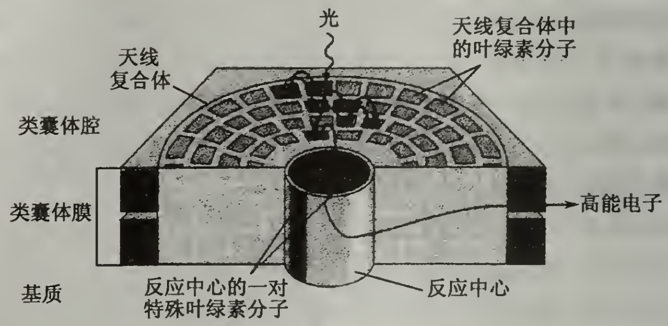


图 11 – 12　类囊体膜中天线复合体及其反应中心图解

天线收集被光激发的电子,将能量集中传给反应中心的一对特殊的叶绿素分子。于是反应中心便把获得的高能电子迅速传递给类囊体膜中的电子传递链

具体反应过程为: 类囊体膜中光合作用单位的叶绿素和类胡萝卜素分子等捕光色素分子吸收光能, 所吸收的光量子通过共振机制传递给反应中心的中心色素 (叶绿素 a)分子, 叶绿素 a 分子被激发而变成激发态, 光能转化成了化学自由能。反应中心的叶绿素 a 分子紧挨着 1 个电子受体分子和 1 个电子供体分子,带正电的中心色素分子在返回到基态的过程中将所释放的电子传递给电子受体。反应中心叶绿素 a 分子发出激发电子后, 即缺少 1 个电子, 本身便带有正电荷,处于激发态。失去电子的叶绿素 a 分子又从相邻的电子供体分子处接受 1 个电子, 以恢复到基态水平。此过程不断地进行, 电子也就不断地从电子供体被传递给电子受体, 从而将光能转化成电能。

在原初反应中,最初的电子供体分子为水。失去电子的叶绿素 a 分子在含 Mn 的酶催化下,从水分子获得 1 个电子,水分子的氧以分子形式释放,2 个氢原子则以质子形式进入类囊体腔中。水的这种分解称为水的光解。反应中心叶绿素分子发出的高能电子则沿着类囊体膜中的电子传递系统进行传递,最终传递给 $NADP^+$,形成 $NADPH_2$。

(二)电子传递

原初反应后,立刻便会发生电子的传递。早在 20 世纪 60 年代初期已确定, 类囊体膜中含有两种光合作用单位, 即光系统 I(PSI) 和光系统 II(PSII)。这两个系统互相配合,利用所吸收的光能把从水而来的一对电子从水传递给 $NADP^+$。电子的传递路线呈“Z”形(图 11 – 13)。

光量子首先被 PSII 色素(天线色素)吸收传给 P680。P680 发出的 1 个高能电子传到膜外表面的电子受体, 这一受体是一种称为质体醌的化合物(Q)。在 P680 叶绿素分子中的电子的还原电位约为 +0. 82V。在其受到激发后,电位骤增至 –0. 06V,从而处于更高的能量水平。电子受体 Q 随后将电子传给电子传递链, 电子便依能级顺序沿电子传递体向下传递。电子传递链包括有质体醌、细胞色素和质体蓝素(plastocyanin),均含有金属离子, 这些电子载体按照精确的顺序进行电子传递。质体醌将电子传给细胞

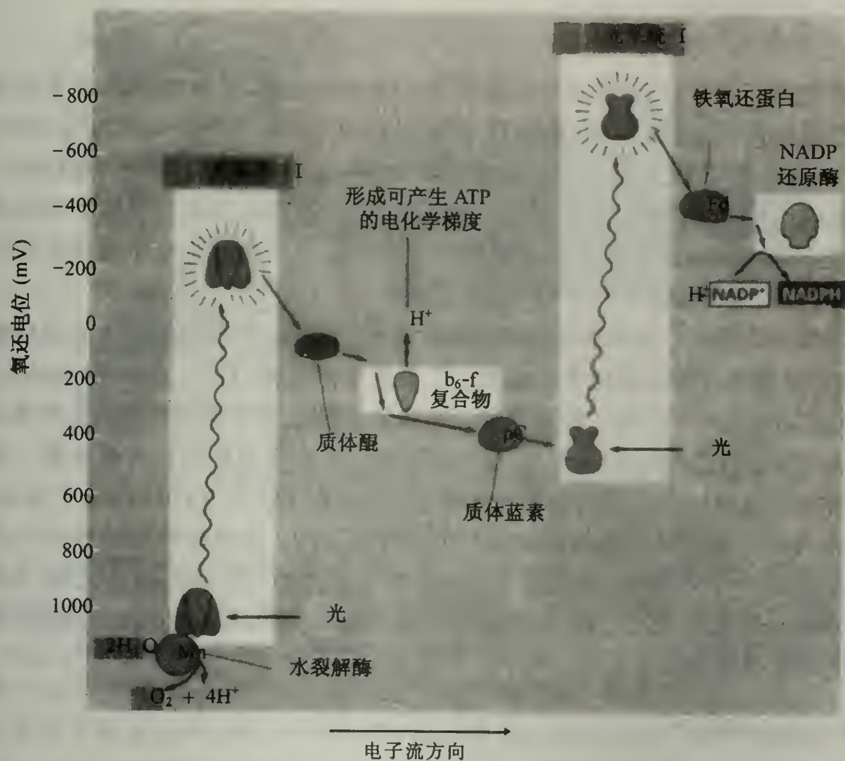


图 11－13　光合作用中两个光系统的电子传递途径及主要变化图解

粗箭头代表电子传递抑制剂 DCMU(敌草隆)和 DBMIB 的作用部位

色素 553(也称细胞色素 f)。最后传至质体蓝素。最近的研究发现,质体醌通过控制一个可动的捕光色素－蛋白质复合物的磷酸化,对 PSI 和 PSII 之间所吸收光能的分布具有决定作用。

在约近 +0.4V 能级水平时，PSI 反应中心的叶绿素 a(P700) 从质体蓝素接受电子。P700 叶绿素吸收光能和由捕光集合体传来的激发能,而升为激发态。一旦 P700 电子升到足够高的能级水平时，即可被能级在 0.6V 的 X 化合物（一种铁硫蛋白）所接受。此时,P700 实际上被电离。P700 电子载体接受电子又恢复到基态。由此可见,PSII 的 P680 的电子供体为水,而 PSI 的 P700 电子供体为质体蓝素。

电子再由受体 X 传到还原铁氧化还原蛋白的物质(ferredoxin-reducing substance),再到铁氧化还原蛋白（一种非血红素铁蛋白)。还原的铁氧化还原蛋白在铁氧化还原蛋白 -NADP 还原酶的催化下,将电子传给 $NADP^+$,形成了 NADPH。1 个铁氧化还原蛋白分子，只能提供 1 个电子，因而要形成 1 分子 NADPH(需要 2 个电子）就需要 2 个铁氧化还原蛋白分子提供 1 对电子。

(三)光合磷酸化

在有光的条件下,当电子沿电子载体链传递时,亦合成了 ATP,这一过程称为光合磷酸化(photophosphorylation)。光合磷酸化专指由光照所引起的电子传递与磷酸化偶联在一起形成 ATP 过程，又可分为循环式和非循环式两种形式。

1. 非循环式光合磷酸化

所谓非循环式是指 P680 从水获得电子，电子沿连接 PSI 和 PSII 两个光系统的线形电子载体链传递，传至 P700，最后并入到 NADPH 中。在电子由 H_2O 向 NADPH 传递的过程中，同时释放出自由能，使 ADP + Pi 合成 ATP。其中，电子的传递经两个光系统，形成的产物为 ATP 和 NADPH，磷酸化的两个发生部位是在质体醌到质体蓝素之间。因而，每一光合磷酸化过程均需供体分子提供新的电子，电子能量最后贮存于 NADPH 和 ATP 分子中。

向叶绿体悬浮液中加入解偶联剂，阻断电子传递，ADP 的非循环式光合磷酸化也中止，这说明两种过程是偶联在一起的。二氯苯二甲基脲[3-(3′, 4′-dichlorophenyl)-1, 1′-dimethyl urea, DCMU]是一种除莠剂，可抑制电子由 PSII 流向质体醌。如果向叶绿体悬浮液中加入 DCMU，即可使电子传递和光合磷酸化两种过程均被阻断。如果向 DCMU 抑制系统中加入可提供电子的还原剂，则通过 PSI 向 $NADP^+$ 的电子流可恢复，而 PSI 和 PSII 之间的载体链仍被阻断，仍不合成 ATP。因而证明，NADPH 的形成是 PSI 的功能，而 ATP 的形成，需要有连接 PSI 和 PSII 的电子载体链畅通无阻。如果加入二溴甲基异丙基苯醌(2, 5-dibromo-3-methyl-6 isopropyl-p benzoquinone, DBMIB)，则可抑制 PSI 对质体醌的氧化。

2. 循环式光合磷酸化

在循环式光合磷酸化中，为电子再循环，勿需外部供体补充电子。P700 在光能激发下所发出的电子通过铁氧化还原蛋白、质体醌、细胞色素 b_6、细胞色素 f 和质体蓝素，又返回 P700。在返回过程中形成的产物只有 ATP。其电子的传递只经过 PSI 一个光系统，与 PSII 无关。循环式光合磷酸化一般情况下只发生在植物缺乏 NADP 的时候。

学者们认为，叶绿体的光合磷酸化和线粒体的氧化磷酸化是通过相同的偶联机制进行的。目前盛行的，仍是用化学渗透学说来解释光合磷酸化过程。也就是说，是利用跨膜质子浓度差所含的势能来驱动 ADP 的磷酸化。膜内外质子梯度的陡度越大 ADP 磷酸化的速率越快，当梯度差达到 10 000(ΔpH 为 4)时，ATP 合成速率最大。

类囊体膜中，电子传递链的各个成分均按一定的顺序排列，而且具有一定的分布部位。类囊体腔中溶液的水分子发生光解时，释放出氧分子，2 个质子和 2 个电子。P680 分子吸收 1 个光子后，激发出 1 个电子，传到膜外表面的电子受体。两个氧化的 P680 经一种含锰的酶的催化接受了由水提供的 2 个电子。膜外表面的这个电子受体为质体醌(PQ)，PQ 接受电子，并从基质中摄取 2 个质子，还原成了 PQH_2 。PQH_2 穿膜移到膜的内表面，将质子释放到腔内溶液中，而把电子交给了细胞色素 f。随后经位于膜内表面的质体蓝素，把电子传给了 P700。P700 吸收光子后，放出电子被膜外表面的铁硫蛋白所接受，随即又传给位于膜外表面的铁氧化还原蛋白(Fd)，再传给黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)。FAD 从基质中吸收 2 个质子，而还原成 $FADH_2$。最后，$FADH_2$ 将 1 个质子和 2 个电子交给 $NADP^+$，使后者还原成 NADPH。至此，在 1 对电子的全部传递过程中，膜外消耗了 3 个质子，膜内则净加了 4 个质子，随着过程的反复不断进行，膜内外便建立了质子梯度，贮存着自由能。膜内质子浓度高，有向膜外穿出的趋势。质子经 CF_1-F_0 复合物穿出膜，在 CF_1 因子的催化下，ADP 被磷酸化为 ATP(图 11 – 14)。

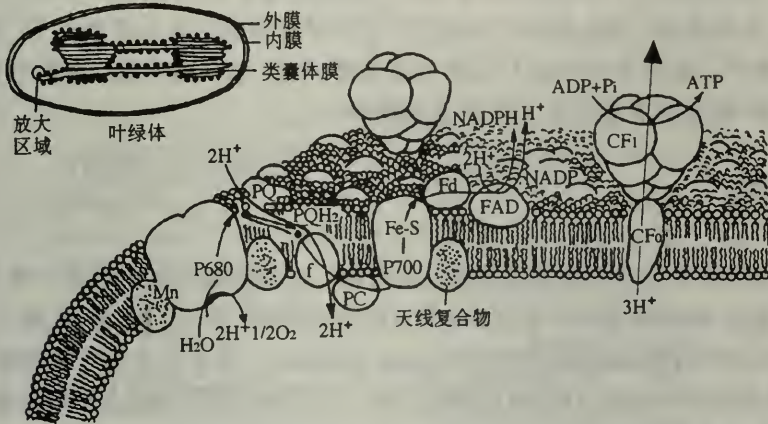


图 11－14　叶绿体类囊体膜中光合磷酸化过程的化学渗透学说图解

从上述过程可看出，在化学渗透学说看来，叶绿体的光合磷酸化过程和线粒体的氧化磷酸化过程是通过同一种机制实现的，这就是，在电子传递过程中于类囊体膜两侧建立起了质子的跨膜梯度，这种梯度贮藏着自由能。质子有返回基质的趋势，在质子顺梯度返回基质时，由 CF_0-CF_1 因子驱动 ADP 磷酸化，生成了 ATP。但是，在叶绿体和线粒体中所进行的过程又有所不同。前者通过 1 对电子的 2 次穿膜传递，在基质中摄取 3 个质子，在类囊体腔中产生 4 个质子。每 3 个质子穿出 CF_1-F_0 复合物，则生成 1ATP 分子(图 11－15)。而在线粒体中，1 对电子 3 次穿膜转移传递，将基质中的 3

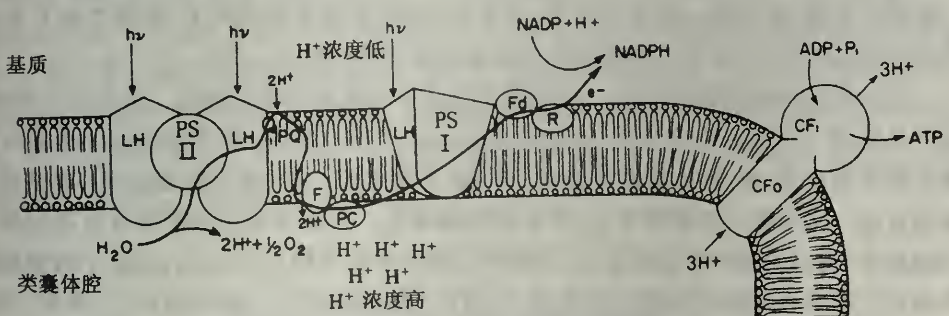


图 11－15　化学渗透学说对光合磷酸化总过程的图解

对质子抽提内到外膜间隙中，每 1 对质子穿过 F_1-F_0 复合物，便生成了 1 个 ATP 分子。虽然用来解释线粒体氧化磷酸化偶联机制的三种假说同样也被用来说明叶绿体的光合磷酸化偶联机制，但目前有更多的实验证据支持了化学渗透学说。

叶绿体离体实验表明，当叶绿体在非缓冲液中受到照射时，介质便迅速变碱，这说明质子被输往类囊体腔中。如果将实验体系再置于黑暗中，则酸度又恢复平衡。如果在黑暗中，使介质变碱，即可引起 ATP 的磷酸化。当用去垢剂破坏膜结构，则造成质子泄漏，同时也阻止了磷酸化作用。

A. Jagendorf(1967)的实验同样也支持了化学渗透偶联学说。实验证明，叶绿体悬浮液中人为地改变介质的 pH 梯度，也可促使合成 ATP。先将叶绿体置于 pH4.0 介质

中，形成一暂时性的 H^+ 浓度梯度，然后将叶绿体迅速转移到 pH8.0 介质中，这时，类囊体腔中 H^+ 浓度高，而基质中 H^+ 浓度低，这种情况类似于在光照条件下，把 H^+ 抽提到类囊体腔中。如果在这时加入 ADP 无机磷酸，则有 ATP 的生成。由此可见，类囊体膜内外的 H^+ 浓度梯度是合成 ATP 的直接能源。

三、暗反应

光合作用的光反应是在类囊体膜上进行的。在此阶段产生的最终产物为 NADPH 和 ATP。随后，叶绿体利用了 NADPH 和 ATP 的化学能，使 CO_2 还原，合成了碳水化合物。这步反应不需要光，故称为暗反应(dark reaction)。暗反应是指叶绿体在无光条件下，利用光反应所产生的 ATP 和 NADPH，将 CO_2 还原合成碳水化合物的过程。暗反应是在叶绿体基质中进行的。

(一)暗反应的 C_3 途径

20 世纪 50 年代，M. Calvin 等学者首先研究清楚了 CO_2 还原的主要途径。Calvin 等人在利用放射性核素 ^{14}C 标记的 $^{14}CO_2$ 示踪实验中发现，在加入 $^{14}CO_2$ 几秒钟后，就有 ^{14}C-3- 磷酸甘油酸的积累。3- 磷酸甘油酸是一种三碳糖化合物。随后不久，^{14}C 即出现在六碳糖磷酸和由六碳糖缩合成的淀粉中。

CO_2 还原途径的起始步骤，是在核酮糖 1, 5- 二磷酸羧化酶的催化下，CO_2 同核酮糖 1, 5- 二磷酸(RuBP)化合，形成一六碳化合物。该六碳化合物存在时间短暂，随即水解成 2 个 3- 磷酸甘油酸分子。随后，通过消耗 ATP，3- 磷酸甘油酸磷酸化，形成了 1, 3- 二磷酸甘油酸。后者是一种激活分子，接受 NADPH 的氢原子和电子，结果产生了 3- 磷酸甘油醛，随后又产生了六碳糖和更为复杂的化合物(图 11 – 16)。

在放射性标记实验中证明，六碳糖的所有 6 个碳原子均带标记，但是 1 个 RuBP 分子只能同 1 个 CO_2 分子反应。Calvin 和 Benson 主张，在光合作用中的每 1 个 CO_2 的固定都要经过 RuBP 再生的循环途径，RuBP 不断再生，CO_2 便不断被固定。再生过程相当复杂，其中各个步骤要有 12 种不同的酶催化，所涉及的中间产物含有不同数目的碳原子，通过 RuBP 再生固定 CO_2 的循环，称为卡尔文循环(Calvin cycle)。因其最初产物是三碳的 3- 磷酸甘油酸，故又名 C_3 循环(或三碳循环)。循环进行 6 个周期，可将 6 个 CO_2 分子固定到己糖分子中。在循环中，当 RuBP 再生时，形成了果糖 -6- 磷酸中间产物，该糖再进入其代谢途径，最终或进入细胞质形成蔗糖、氨基酸等，或留在叶绿体中形成了淀粉。

(二)暗反应的 C_4 途径

一般植物的 C_3 循环对环境中的 CO_2 浓度有一定的要求，当环境中 CO_2 浓度低于 5×10^{-5}ml/L （50ppm）时，光合作用的 C_3 循环就要停止 ［大气中 CO_2 浓度通常为 0.03%，即 3×10^{-4}ml/L(300ppm)］。可是有一些绿色植物生活在 CO_2 浓度只有 5×10^{-6}ml/L(5ppm)的环境中仍生机盎然。这种具有固定 CO_2 强大能力的植物还存在着另外一条固定 CO_2 的循环途径。M. D. Hatch 和 C. R. Slack 于 1966 年终于查清了这条途

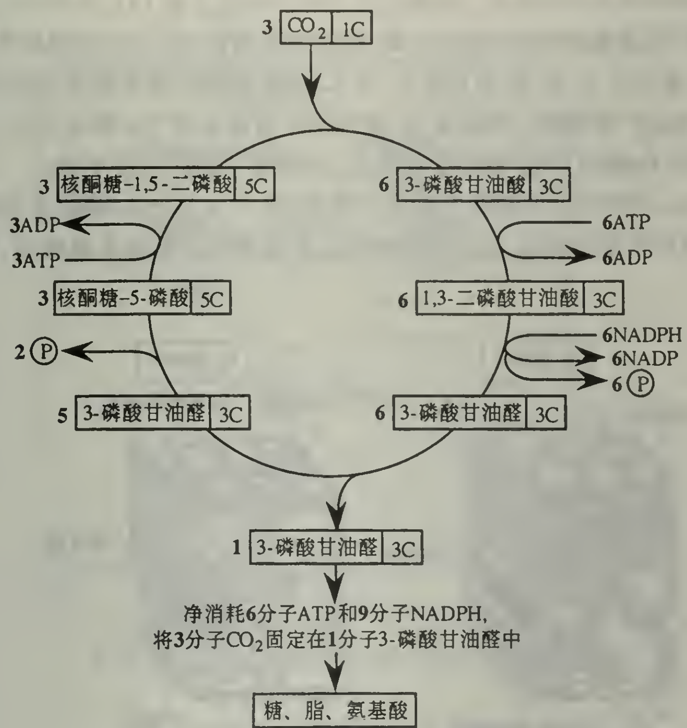


图 11－16　光合作用暗反应中的 C_3 循环途径图解

径。在此途径中,CO_2 固定的最初产物是由 3 种四碳的二羧酸所组成的混合物,即草酰乙酸、苹果酸和天冬氨酸。这条途径称为 Hatch-Slack 循环。因其最初产物为四碳的二羧酸化合物,故又名 C_4 循环(或四碳循环)。循环中,CO_2 在磷酸烯醇酮酸羧化酶的催化下,首先和三碳的磷酸烯醇丙酮酸(PEP)发生反应,形成四碳产物——草酰乙酸,后者进一步降解为苹果酸和天冬氨酸。四碳酸在酶的作用下,分解和游离出 CO_2 和丙酮酸。丙酮酸再利用 ATP 的分解,形成磷酸烯醇丙酮酸 (PEP)。PEP 再次同新进入的 CO_2 反应,形成 C_4 产物(图 11－17)。

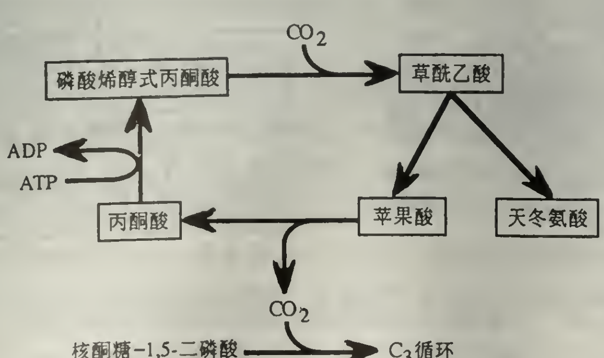


图 11－17　某些植物中 CO_2 被还原的 C_4 循环辅助途径

PEP 羧化酶的催化效率极高，能催化进入叶内的极少量 CO_2 和 PEP 反应，形成草酰乙酸。四碳酸(苹果酸和天冬氨酸)分解，释放出游离的 CO_2，为 C_3 循环的 RuBP 羧化酶系统所接受，参加了 C_3 循环。由此可见，在 C_4 植物中 PEP 羧化酶固定的 CO_2，最终在叶内转交给了 RuBP 羧化酶，而不像 C_3 植物那样直接从空气中吸收 CO_2，参加 C_3 循环。C_4 植物利用 C_4 循环同 C_3 循环密切配合，抵御着严酷的不良环境。

C_4 植物与 C_3 植物在叶的结构上有很大差别(图 11－18)。C_4 植物叶的特定结构保证了 C_3 和 C_4 循环的密切配合。在 C_4 植物叶内，叶脉周围为维管束鞘细胞，再外面有叶

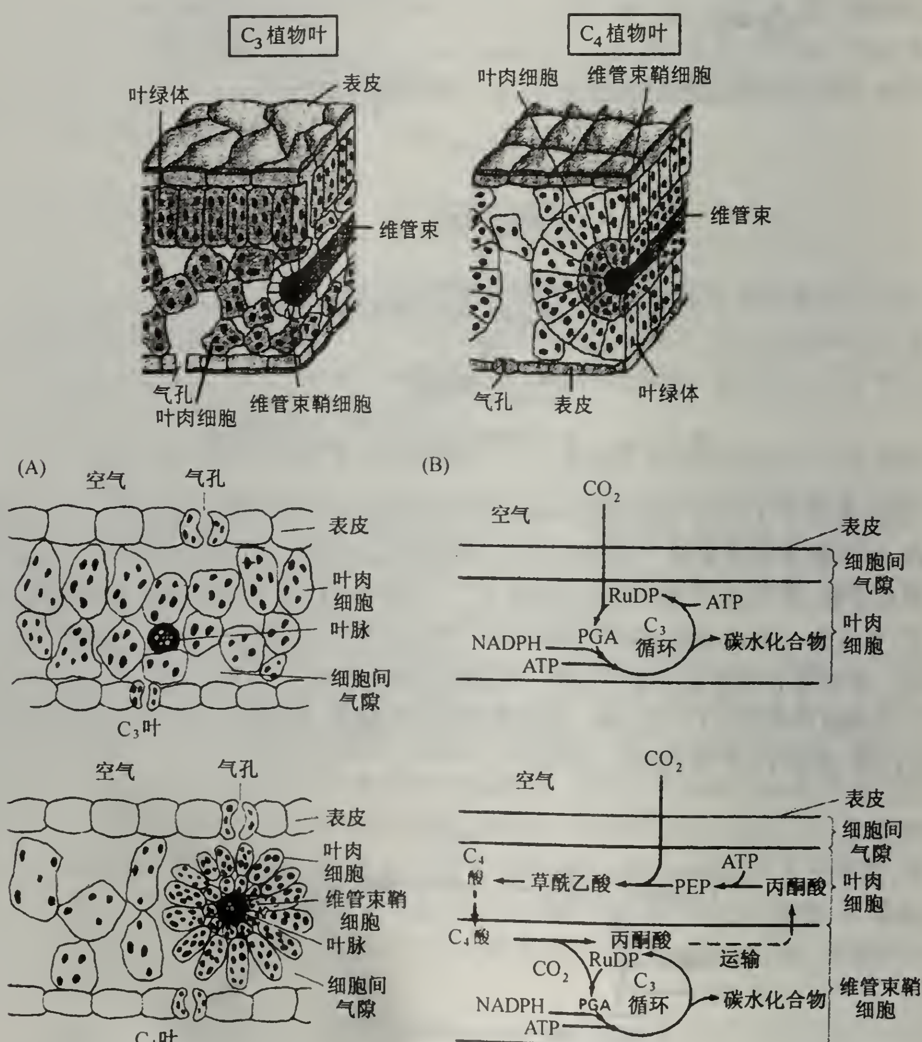


图 11－18　C_3 植物与 C_4 植物叶的结构和 CO_2 还原途径的比较对比图解
(A)C_3 与 C_4 植物叶三维结构示意图；(B)CO_2 还原途径的比较(自 Avers, C. 1981)

肉细胞包围，这些细胞都含有叶绿体。CO_2 由气孔进入叶内胞间气隙，参加了叶肉细胞的 C_4 循环。C_4 循环中释放出的 CO_2 交给了维管束鞘细胞参加了 C_3 循环(图 11－19)。

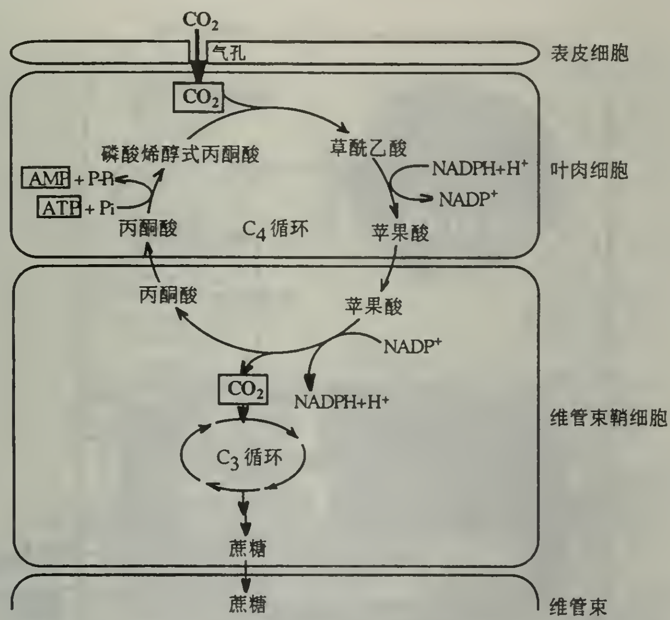


图 11－19　某些植物中 CO_2 被还原的 C_4 循环辅助途径

第五节　叶绿体的半自主性

叶绿体与线粒体一样，是细胞内的一类半自主性细胞器，也含有能进行自我复制的遗传物质——环状 DNA，位于一电子密度较低的类核(nucleoid)区中，每一类核中含有多个环状 DNA 分子。叶绿体越大，类核也越大。叶绿体 DNA 随植物生长而增大。例如，甜菜幼苗的叶绿体 DNA 有 0.9μm^3，而成熟植株的叶绿体 DNA 则增大到 3.7μm^3，在高等植物中叶绿体 DNA 的长度约为 40～60m，根据推算，可为 200 种蛋白质编码。叶绿体 DNA(chDNA)与 mtDNA 不同，叶绿体中的几十套 chDNA 的编码都是一样的。

叶绿体 DNA 对短波长的紫外线的敏感性比核 DNA 要高，这一点很像细菌 DNA。细胞受到对细胞分裂无影响的紫外线剂量照射后，质体 DNA 即可失活。

叶绿体中还含有进行蛋白质合成的全套机构，包括三种 RNA 和核糖体，能合成部分蛋白质。叶绿体核糖体为 70S 类型的。

虽然叶绿体具有自身的遗传物质和进行蛋白质合成的全套机构，但是组成叶绿体的各种蛋白质成分是由核 DNA 和叶绿体 DNA 分别编码，也就是说叶绿体的发育和增殖是由核 DNA 和叶绿体 DNA 共同控制的(图 11－20)，只有少部分蛋白质是由叶绿体 DNA 编码的。例如，RuBP 羧化酶是由 8 个大亚基和 8 个小亚基组成，二者各为一种多肽链。大亚基多肽链的相对分子质量为 50～55 kDa，小亚基多肽链的相对分子质量为 12～14kDa。前者是由叶绿体基因组编码，在基质中合成，后者由核基因组编码，在细胞质基质中合成。

T. Pfannschmidt(1999) 发现，质体醌的氧化还原状态还可控制反应中心脱辅基蛋白 (apoprotein) 编码基因的转录速率，此种控制的结果，会使两个光系统之间的化学计量发生一定改变，以抵御由于某个光系统限制另一个光系统的效率所造成的反应效率的降低。

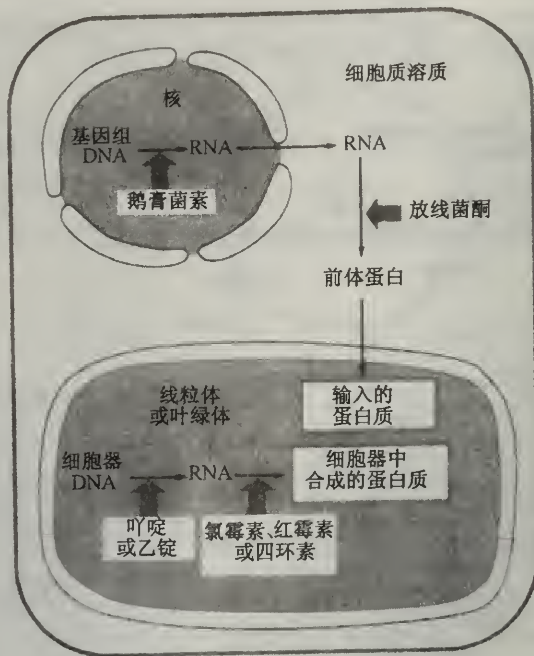


图 11－20　线粒体和叶绿体的半自主性图解

线粒体和叶绿体的生长与增殖所需要的大部分蛋白质是由核基因编码、在细胞质中合成的；仅有少部分蛋白质是由其自身基因编码、在线粒体和叶绿体内合成的

第六节　叶绿体的发生

在个体发育中，叶绿体是由前质体(Proplastid)分化而来。前质体为卵圆形小体，存在于根的生长区和芽的分生组织细胞中。前质体的大小一般为 0.5～1.0(1.0～1.5) μm，外面包围有双层膜，内部为无结构的基质，含有 DNA 丝、核糖体和淀粉或其他碳水化合物。在未发育的前质体中有小管状的类囊体原基。

前质体在有光和无光条件下的结构分化是不一样的（图 11－21）。在光照射条件下，由内膜内褶形成的小泡或小管即与内膜断开，分散在基质中。这种膜成分逐渐生长、排列成长扁平的囊，即基质类囊体。有的部位扁囊叠置成多层，组成了基粒（图 11－21a）。在类囊体发育的同时，也合成了光合色素。不过类囊体的形成和叶绿素的合成是两种独立的变化过程。例如，有的突变不能形成类囊体，却可制造正常叶绿素；有的突变体则可发生正常的类囊体，而叶绿素合成得很少。但是，如果合成的叶绿素不能参加膜构成，则会很快发生分解。

如果植物在暗处或光强很低的场所生长，则前质体形成的小泡可聚集在一起，发育为一个或 *n* 个前片层小体（prolamellar body）。前片层小体呈晶格状，是由许多相互规则连接的小管所组成。具有这种结构的质体称为白色体(图 11－21b)。

如果把绿色植株置于暗环境中生长，则类囊体发生退化，失去了典型的结构，而形成了前片层小体，这时便变成了白色体（etioplast）。当这种植株重新受到光照时，前片层小体解体，几分钟后建成了基质类囊体和基粒(图 11－22)。白色体含有原叶绿素

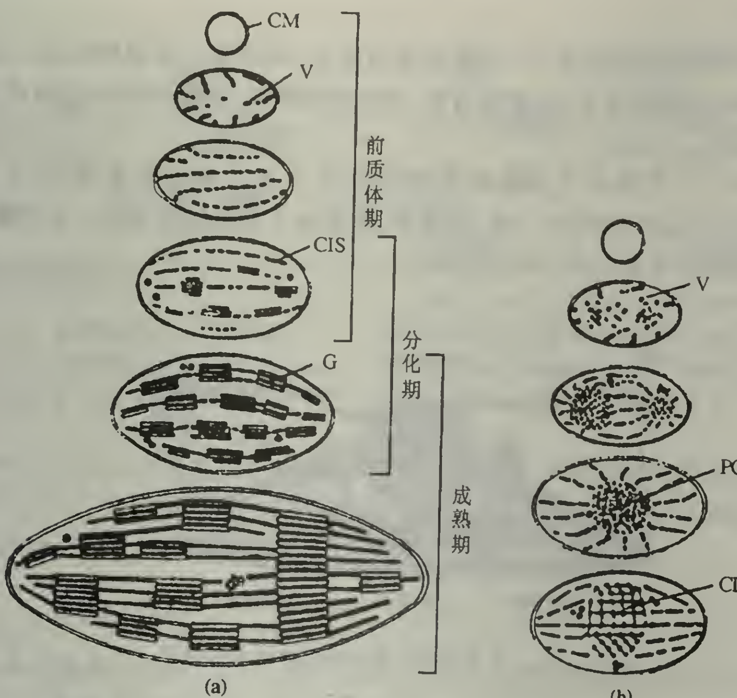


图 11－21　在有光和无光的条件下，前质体的发育图解
(a) 在光照条件下，前质体发育为叶绿体的三个时期；(b) 在无光条件下，前质体则分化为前片层小体
CIS. 扁囊；CL. 前片层小体的晶格；CM. 质体的双层膜；G. 基粒；V. 小泡

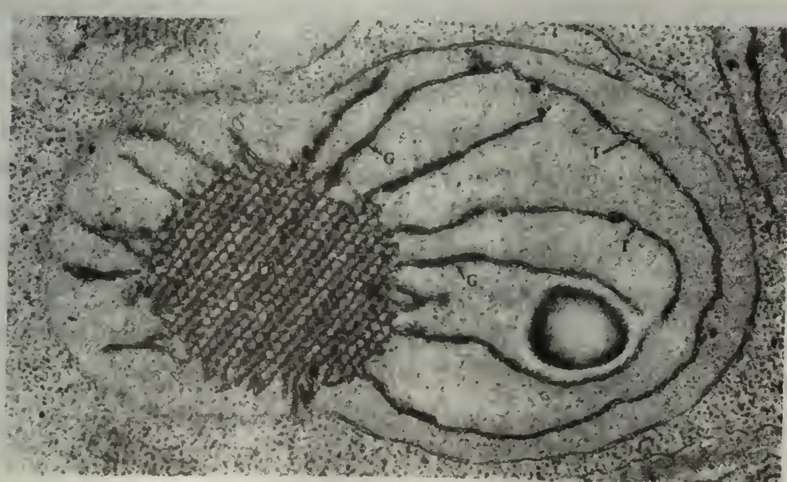


图 11－22　菜豆(*Phaseolus vulgaris*)白色体在光照条件下前片层小体转变成类囊体的电镜图
PG，前片层小体，呈晶体状，发育出类囊体；G，基粒类囊体，已开始成摞(↑)；T，小泡融合成类囊体
(自 Avers　1981)

(proto-chlorophyll)，是叶绿素 a 前体物。原叶绿素存在于前片层小体中，受光照射时，1 分钟后，原叶绿素即被还原成叶绿素 a。由此可见，在光照条件下，白色体可变成具有正常结构和功能的叶绿体。

叶绿体的长大，是由于增加了新的膜成分，未发现有叶绿体的融合现象。叶绿体是通过分裂进行增殖(图 11－23)，前质体、发育中的幼龄叶绿体分裂，成熟叶绿体通

常不再分裂。

植物体受不到光照的部分，如马铃薯的块茎，前质体中有淀粉沉积，从而变成了造粉体(amyloplast)。最初，造粉体有膜、类核和核糖体，随着淀粉粒的积累，内部结构变得模糊不清。

质体中也可积累非光合色素（如类胡萝卜素、番茄红素等)，变为有色体(chromoplast)。如花呈现出红、黄、橘黄色，即是由于有色体造成的。有色体中也含有DNA，但色素的合成是由核 DNA 控制的。

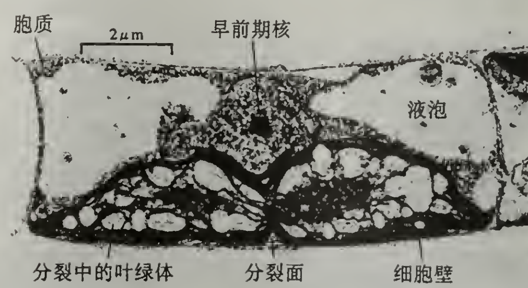


图 11－23　正在进行分裂的叶绿体的电镜照片

第七节　原核生物的光合作用

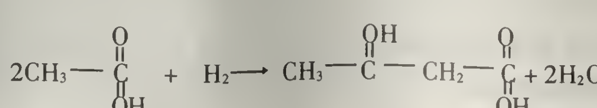
有三类原核生物可进行光合作用，即蓝细菌、紫细菌和绿细菌。

蓝藻细胞中不存在进行光合作用的单一细胞器，但在细胞质中却有规则分布的光合膜。这些光合膜来源于细胞膜，成熟后不再同质膜相连。光合膜的厚度为 15～16nm，横切面呈“暗－明－暗”结构。蓝藻的光合作用过程与高等植物相似，也含有不同能谱的双色素系统。同样也是以水为电子供体，O_2 是其最终副产物(图 11-24)。

光合细菌的光合作用机制与蓝细菌完全不同，虽然它们含有行光合磷酸化的光合膜，但并不产生氧。光合膜中含有一种特殊的叶绿素，称为细菌叶绿素(bacteriochlorophyll)。吸收光谱为 890nm，进入远红光区，故称 P890。光合细菌只有 1 个光系统 PSI(图 11-25)。紫细菌的光合膜内陷成小管或小泡，同质膜相连。细菌的光合作用不用水做还原剂，也不产生氧。还原为 CO_2 还原剂为氢分子、H_2S 或有机物。紫细菌和绿细菌中的硫细菌，即是以 H_2S 为原料产生硫和硫酸：

$$6CO_2 + 12H_2S \xrightarrow[\text{细菌叶绿素}]{\text{光}} C_6H_{12}O_6 + 6H_2O + 12S$$

非硫紫细菌则以有机物（如醋酸）为电子供体。某些硫和非硫紫细菌也可利用氢分子还原 CO_2 和醋酸：　$6CO_2 + 12H_2 \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6H_2O$



由此可见，如果用一般概念的氢供体（H_2D）来代替 H_2O，那么无论是植物还是细

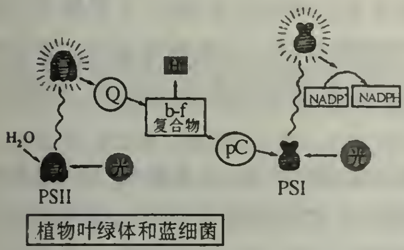


图 11－24 蓝细菌的光合作用图解

蓝细菌的光合作用与高等植物类似，也是以水为还原剂，由光系统 I 和光系统 II 共同完成

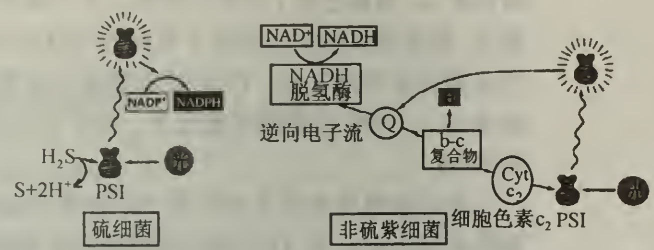


图 11－25 几种光合细菌光合作用的对比图解

硫细菌和非硫紫细菌等紫细菌和绿细菌仅由光系统 I来承 担，其中，硫细菌以硫化氢为还原剂，非硫紫细菌以 CO_{02} 或醋酸等有机物为还原剂

菌，其光合作用反应过程基本相同，所不同的只不过是不同类别生物所利用的氢供体有所不同而已。可作为氢供体的物质有 H_2S 或其他有机物等，例如，非硫紫细菌即是用乳酸作为氢供体。因此，可将光合作用的反应式概括成一个通式：

$$2H_2D + CO_2 \xrightarrow[\text{叶绿素}]{\text{光}} [CH_2O] + H_2O + 2D$$

式中的 H_2D 既可是 H_2O，也可是 H_2S 或其他氢供体。与氢转移和还原 CO_2 的同时，供体被氧化成了 D。产氧光合作用的 O_2 分子来源于 H_2O，而不是 CO_2。

提　要

叶绿体是存在于绿色植物细胞中的一种细胞器。它是质体中的一种，具有光合作用能力。藻类和原生生物中的叶绿体，形状有物种差异，而陆生植物的叶绿体均呈橄榄形。叶绿体的最外围有液体基质和类囊体膜。类囊体膜形成了小管和成摞的扁囊，后者称为基粒。叶绿体的各个区间均各有专门的功能，基质中含有光合作用暗反应所需要的酶以及叶绿体遗传物质和蛋白质合成机构，类囊体膜则含有捕光色素、电子传递系统、ATP 合成机构和能把质子抽提到类囊体腔中的质子泵。

类囊体膜中含有各种光合色素，如叶绿素、类胡萝卜素等，这些色素构成了能吸收可见光光能的捕光复合物。对光合作用最有效的波长的光被叶绿素所吸收。类胡萝卜素是辅助分子，能把吸收的能量传递给叶绿素。能量传递给 1 个称为反应中心的叶绿素 a 分子，这个分子把光能转变为化学能。

这些色素由专一蛋白质结合到类囊体膜中，集中成颗粒。颗粒分两种，即光系统 I(PSI) 和光系统 II(PSII)。光系统 I 和 II 中各有一叶绿素 a 分子，反应中心的叶绿素 a 分子的光吸收波长，PSI 为 700nm，PSII 为 680nm，故分别称为 P700 和 P680。PSII 核心颗粒和捕光复合物 (LHC) 结合，构成了在背向原生质的断裂面上 (叠置区) 的大颗粒，直径大于 14nm。PSI 核心颗粒分布在向原生质的断裂面，直径约 8nm，同捕光复合物结合则构成直径为 11.5nm 的颗粒。

在光合作用的光反应阶段，水为电子供体，电子的最终受体为 $NADP^+$。电子由水传到 $NADP^+$ 经过 PSII 和 PSI 两个途径。经原初反应，由水产生的获能电子首先传至 PSII，再由 PSII 经电子传递链到达 PSI，然后由 PSI 到 $NADP^+$。电子传递链中起始电子受体可能为醌化合物，故称为 Q。Q 把电子传给电子传递链。链中的成分为质体醌、细

胞色素 b_6、细胞色素 f 和质体蓝素。电子载体分子均含有能进行氧化还原反应的金属离子。质体蓝素把电子传给了电离的 P700。PSI 捕光复合物吸收光能(2 个光量子),电子由基态变为激发态，P700 把获能电子传给一种铁硫蛋白——铁氧还蛋白，在铁氧还蛋白 - NADP 还原酶的催化下，电子由还原型的铁氧还蛋白传至 $NADP^+$，形成了 NADPH。

被光能激发的电子 PSII 和 PSI 传递中除产生了 NADPH 外,还在与电子传递链相偶联的过程中合成 ATP,这一过程称为光合磷酸化。光合磷酸化过程分为循环和非循环式两种。在循环式光合磷酸化过程中,还原型铁氧还蛋白把电子传回电子传递链中的细胞色素 b_6，再沿电子传递链传递至 PSI。非循环式光合磷酸化则把在 PSII 与 PSI 之间的传递链中所进行的电子传递偶联起来。光合磷酸化的机制也可用化学渗透学说来解释。电子在传递中,使类囊体腔与基质之间造成了质子梯度差,这种电化学势能可驱动结合在类囊体膜上的 ATP 合成酶在基质中合成 ATP。

光反应阶段所产生的高能化合物 ATP 和 NADPH 进一步参加了光合作用的暗反应阶段。暗反应是在基质中进行的,不需要光能。基质中含有 RuBP 羧化酶,在 RuBP 羧化酶的催化下,CO_2 同 5 碳的核酮糖 1, 5 - 二磷酸(RuBP)相结合,形成了一种 6 碳中间产物,该中间产物迅即分解成 2 个 3 碳化合物。ATP 和 NADPH 把 3 碳化合物转变成高能的 3 - 磷酸甘油醛,进而形成己糖。在此过程中,核酮糖 1, 5 - 二磷酸又进行再生,形成了循环途径, 即 C_3 循环。一切绿色植物中都具有 C_3 途径,不断固定 CO_2。每固定一个 CO_2 分子需要 3 个分子 ATP 和 2 个分子 NADPH。有些植物还具有 C_4 途径,在 CO_2 浓度低于进行 C_3 循环的环境中仍能固定 CO_2。在 C_4 循环中,磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶催化 CO_2 同 3 碳的磷酸烯醇式丙酮酸结合形成一系列 4 碳中间产物，其中由苹果酸分解产生 CO_2 和丙酮酸，丙酮酸消耗 ATP 而磷酸化，形成磷酸烯醇式丙酮酸,磷酸烯醇式丙酮酸又可在酶的催化下同 CO_2 结合进行下一轮循环。C_4 循环的存在可保持一定的 CO_2 浓度，即便在环境中 CO_2 浓度极低的条件下，CO_2 亦可进入叶内。具有 C_4 循环的植物能在比较干旱的条件下生长。

在个体发育中,叶绿体是由前质体分化而来的。前质体是由双层膜围成的小细胞器,内部包围有无结构的基质。前质体不含叶绿素。在有光照的条件下，前质体内膜内陷,形成小管,伸入基质中。小管与内膜断开后，发育成类囊体。前质体可进行生长和分裂。在无光条件下,前质体中的小管可形成前片层小体。在遇到光时，前片层小体又可发育成类囊体。叶绿体的增殖也是通过分裂进行的。

和线粒体一样，叶绿体也是半自主性的细胞器，在基质中含有环状 DNA 分子和蛋白质合成机构。其 DNA 含有为多种多肽以及所需 rRNA、tRNA 编码的基因,如为细胞色素、ATP 合成酶编码的基因；此外,叶绿体 DNA 还含有为 RuBP 羧化酶编码的基因。而构成叶绿体的其他蛋白质则是由核基因组编码、在细胞质中合成的。

原核生物如蓝细菌、紫细菌和绿细菌也能进行光合作用。蓝细菌的光合作用在其细胞内规则分布的光合膜上进行，其光合作用过程与高等植物相似，也含有不同能谱的双色素系统。同样也是以水为电子供体，最终产生 O_2 。而紫细菌和绿细菌的光合膜中含有一种特殊的细菌叶绿素，且只拥有 1 个光系统 PSI。其光合作用不用水做还原剂,也不产生氧。还原为 CO_2 的还原剂常为氢分子、H_2S 或有机物。

复习思考题

1. RuBP 羧化酶由哪些亚基组成？均是由叶绿体基因编码的？
2. 为什么说叶绿体是一种半自主性的细胞器？
3. 光系统、捕光复合物和反应中心的结构与功能关系如何？
4. 比较并列出叶绿体和线粒体的基本结构异同点。
5. 叶绿体的光反应与线粒体的氧化磷酸化在能量转化方面有何异同点？

主要参考文献

孙谷畴，1983. 光合膜研究的近代发展．生物科学动态，6: 19～22

汪堃仁、薛绍白、柳惠图，1998. 细胞生物学．北京：北京师范大学出版社，204～226

吴乃虎，1994. 高等植物叶绿体细胞分子生物学．细胞生物学进展，第三卷，北京：高等教育出版社

翟中和等，1996. 细胞生物学．北京：高等教育出版社，159～170

Alberts, B. et al., 1994. Molecular Biology of the Cell. New York and London. Garland Publishing InC

Avers, C. G., 1986. Molecular Cell Biology. Addison-Wesley Publishing Company, 1986, Massachusetsts, 363～410

Escoubas, J. M. et al., 1995. Light intensity regulation of cab gene transcription is signaled by the redox state of the plastoquinone pool. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 10237～10241

Giese, A. G., 1984. 细胞生理学，北京：科学出版社，314～337

Heath, R. L., 1973. The Enemy State and Structure of Isolated Chloroplasts: The Oxidative Reactions Involving the Water Splitting step of Photosynthesis. Inter. Rev. Cytol., Academic Press Inc., New York, 49～101

Miller, K., 1980. 光合膜．生物科学动态，2: 39～49

Pfannschmidt T. et al., 1999. Photosynthetic control of chloroplast gene expression. Nature, 397: 625～628

Smith, H., 1977. Chloroplasts-Structure and Photosynthesis, from "The Molecular Biology of Plant Cells". Blackwell Scientific Publications, Oxford, 85～104

间期细胞核和染色体

细胞核是真核细胞内最大、最明显和最重要的细胞器，是细胞进行遗传与代谢等生命活动的调控中心。早在17世纪Leeuwenhoek就在自制的显微镜下发现了细胞核。至1831年苏格兰人Brown第一次使用了细胞核(nucleus)一词，并认为，一切细胞均有细胞核。后来，经过研究表明，除了细菌和蓝细菌外，其他各类活细胞，在其生活的某一阶段或整个生活周期中均有细胞核。

一般说来，真核细胞均具有细胞核，失去细胞核后，很快就要死亡。只有少数几种细胞在无细胞核的状态下可以继续进行生命活动。如哺乳动物的成熟红细胞，在失去核后，仍可生活120天；植物韧皮部的筛管(营养输导细胞)，成熟后是在无核状态下仍可执行功能若干年。对大多数细胞来说，细胞是不能没有细胞核而生活的，当然，细胞核也不能没有细胞质而独立存在。

一般，一个细胞只有一个细胞核。但在有些特殊的细胞类型中，可同时含有多个核。如在白细胞中有一种多核细胞，可含有多个核。另外，在许多纤毛虫中同时含有大、小2个核(小核为生殖核，行有丝分裂；大核为营养核，行无丝分裂)。细胞核的大小因物种不同而不同。一般，高等动物的细胞核直径在10～15μm左右；而高等植物的细胞核直径约为5～20μm；低等植物的细胞核较小，直径只有1～4μm。

细胞核在细胞的生命活动中处于极为重要的地位，是细胞遗传物质的集中区，它对细胞的结构和生命活动具有调控作用。在细胞生活周期中，细胞核的变化显著，如在细胞分裂时，细胞核有解体和重建的变化过程。本章主要以间期核为对象来介绍细胞核的形态、结构和功能。

第一节　细胞核的形态结构

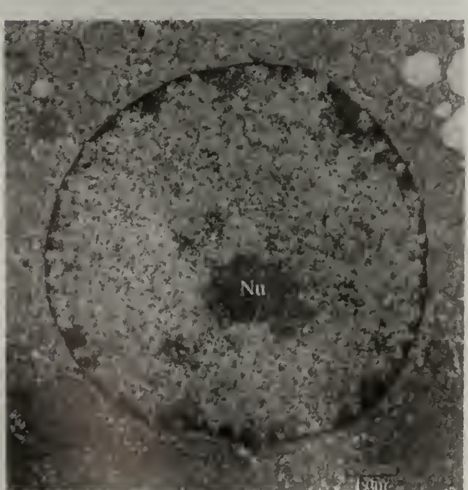


图12－1　电镜下大鼠肝细胞的球形细胞核形态

细胞核一般呈球形或卵球形，但因物种和细胞类型不同其形状又会有较大差异，还可呈杆状、枝状和带状。如在哺乳动物中，嗜中性白细胞的核呈多叶状，平滑肌细胞的核呈杆状。另外，细胞核的形状往往会受到细胞形状的影响，一般说来，多角形、立方形和圆形细胞的核多呈圆形(图12－1)。但有时细胞内含物的增多也会影响核的形状，如动物的脂肪细胞中由于有大量脂肪滴的存在而将核挤成扁盘状。细胞核多位于细胞的中央，但细胞内含物的增多可将核挤至细胞的一端。如植物细胞中的液泡增大

后可把核挤至细胞边缘，动物脂肪细胞内的大量脂肪滴也会将核挤至细胞边缘。

间期核在结构上由核被膜、染色质、核仁、核液和核基质五大部分组成。核被膜为包围在细胞核周围的双层核膜，具有保护核内遗传物质、控制细胞质与细胞核之间的物质运输和信息交换的功能；染色质为核内遗传物质的存在形式，在细胞分裂的中期可凝缩成染色体的结构；核仁是细胞核内浓密小体，为核糖体生物合成的场所；核基质除含有一些无定形结构的液体物质外，还拥有一个复杂的网络结构——核骨架(图 12－2)。下面分别作一介绍。

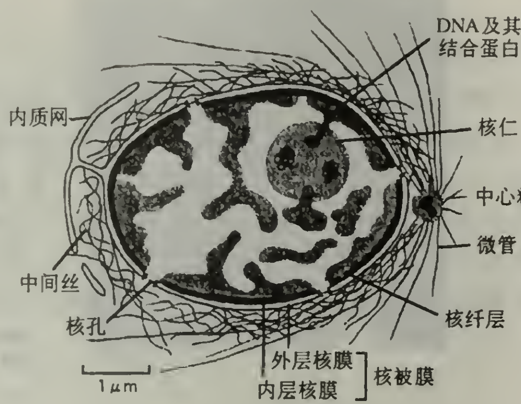


图 12－2　一个典型的细胞核横切面示意图

一、核被膜与核孔复合体

核被膜(nuclear envelope)是包围在细胞核外的界膜，将细胞分隔成细胞质和细胞核两个区域，从而使遗传物质的复制和转录与蛋白质的生物合成在时间和空间上分隔开来，保证各种生命活动之间互不干扰而又有条不紊地进行。核孔复合体为横跨核被膜的复杂结构，在细胞质与细胞核之间的物质和信息交流方面具有重要的生物学功能。

(一)核被膜

核被膜由内外两层平行膜组成。每层膜的厚度均为 7.5nm。向着胞质侧的一层核膜又叫外膜(outer membrane)，其胞质面上附有大量核糖体颗粒。外膜常常与糙面内质网相连。近核质侧的一层核膜又叫内膜(inner membrane)，其表面光滑，含有一些特异性的蛋白质，如核纤层蛋白 B 的受体等。内外层核膜之间有 20～40nm 的间隙，称为核膜间隙(perinuclear space)，与糙面内质网腔相通，因此有人认为核被膜系由内质网延伸而成。核被膜并非完全连续，其内、外膜在一定部位相互融合，形成一些环形开口，称为核孔(nuclear pore)(图 12－3)。在电镜下，可看到核孔在核被膜上的规则排列，且总是可看到其中有颗粒状的致密电子物质存在(图 12－4)。核孔不是一个单纯的小孔，而是一种由 100 多种蛋白质分子构成的相对分子质量为 $0.5\times10^5\sim1\times10^5$kDa 复杂结构，故被称为核孔复合体(nuclear complex)。靠近核孔处的核膜在化学组成上与其他处的核膜不同，特称为孔膜区(pore membrane domain)，其特征性蛋白为一种跨膜糖蛋白 gp210。

(二)核孔复合体

核孔复合体是胞质与核质之间进行物质运输的通道，普遍存在于各种间期细胞的核膜上。核孔复合体直径约为 80～120nm，其中间的通道大小仅为 9×15nm。其数量随

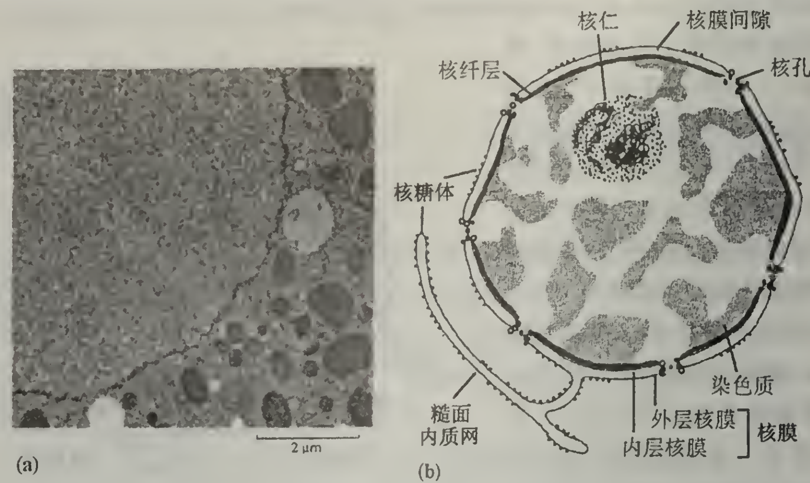


图 12-3　核被膜的超微结构及其模式图解

(a)核被膜的超微结构;(b)核被膜结构的模式图解

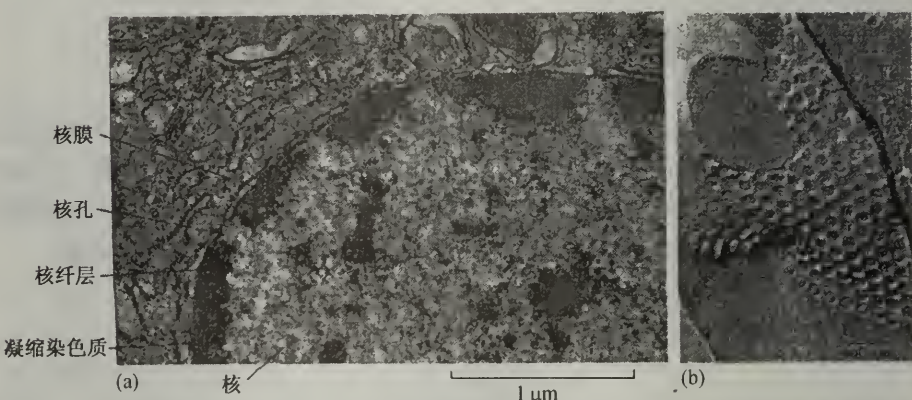


图 12-4　核孔的电镜结构及其在核被膜上的规则排列

(a) 核孔结构的透射电镜照片;(b) 核被膜的冰冻蚀刻电镜照片,示核孔在核被膜上的规则排列

细胞种类、转录活性不同而有较大差异。一般,哺乳类细胞的核孔复合体的数量为 3 000 ~ 4 000 个(11 个/μm^2),爪蟾卵母细胞可高达 3.8×10^7(60 个/μm^2)。另外,在不同的生理状态下,核孔复合体的数量也会改变。如爪蟾中无转录活性的成熟红细胞,其核孔复合体的数量由 11 个/μm^2 减少为 3 个/μm^2,整个核被膜上只有 150 ~ 300 个。此外,核孔复合体的数量还与基因的转录活性有关,转录活性旺盛时,核孔复合体的数量会增加;转录低时,数量则会减少。

1. 核孔复合体的结构

核孔复合体的相对分子质量很大,在脊椎动物中约为 125MDa(1MDa = 1×10^6Da),为核糖体的 30 倍;在酵母中至少也有 66 MDa。由于核孔复合体的大小和组成上的复杂性,使核孔复合体的分离纯化等十分困难,因此有关核孔复合体的形态结构至今仍没有一个统一的模型来阐述其精确结构。多年来,有关核孔复合体的形态结构一直是研究的重点。自 1970 年 Franke、Roberts 等学者最早提出核孔复合体的模型以来,先后

出现了多种模型，比较著名的有纤丝模型(Franke and Scheer 1974)、滴漏样模型(H. Ris 1991)和圆柱模型(Akey, C. W. 1993)。其中，1974 年 Franke 和 Scheer 所提出的纤丝模型在过去的各种教科书中一直被广为引用。

纤丝模型认为，核孔复合体是由核孔和孔环构成的直径 80～120nm 的复合丝状结构，它在核膜上非随机分布，并穿越双层核膜形成通道。首先，在核孔的内、外膜开口的边缘上均有环状物质存在，这些环状物质称为环带(annulus)。环带为非匀质结构，核孔的内、外口处均有一个由 8 个直径为 10～25nm 的环状颗粒(annular granules)。核孔的中心还有一颗粒状或棒状的中央颗粒，称为中央栓(central plug)，因它在核质交换中具有重要作用，故又被称为运输体(transporter)。每个环带的环状颗粒上还分别向核质与胞质中伸出丝状物。胞质环向胞质中伸出的丝状物短而卷曲；核质环向核质中伸出的丝状物长而直(图 12－5)。

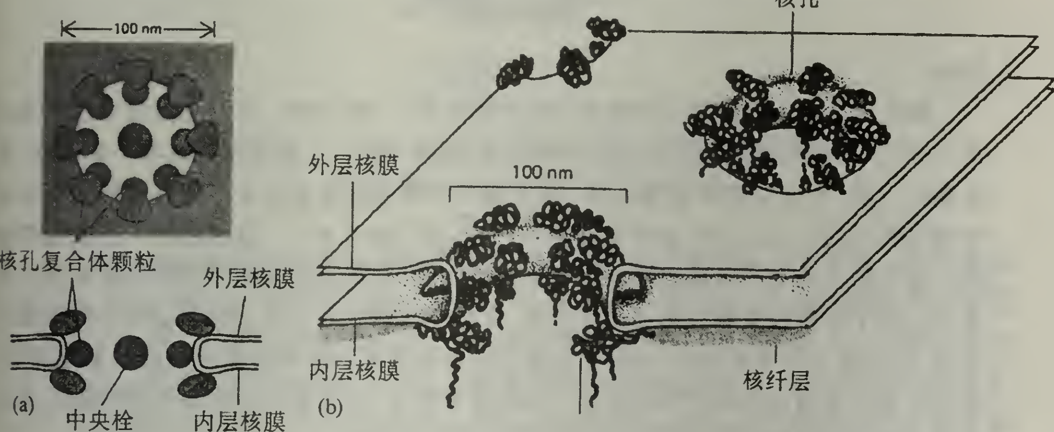


图 12－5　核孔复合体结构的纤丝模型

(a)核孔复合体结构模式图解；(b)核孔复合体在核被膜上的排列方式图解(自 Franke, W. W. et al. 1974)

1998 年，M. Ohno 等在总结前人研究结果的基础上，又提出了核孔复合体的一个新的结构模型。认为核孔复合体的主体是呈八重对称分布的跨膜的辐射状结构(spoke)，这些辐射状结构形成一个环，围绕在运输体的周围。辐射状结构插入到双层核膜的膜间隙中，因此应具有一些跨膜成分，这对于将核孔复合体固定到核膜中是必需的。在辐射状结构的胞质面和核质面均具有孔环状结构，分别称为胞质环(cytoplasmic ring)和核质环(nuclear ring)，二环性质相似，只是大小和形状不同。核质环和胞质环构成了核孔的内、外壁，分别与内、外层核膜相连。胞质环带有 8 根长 30～50nm 的胞质丝，伸入到胞质中；而核质环则向核质中伸出 8 根长约 100nm 的细纤维，被一端环(terminal ring)(直径约 60nm)连接在一起，形成了一种捕鱼笼式的结构，称为核篮(nuclear basket)(图 12－6)。在脊椎动物中，核环直接与核纤层相连，与核孔复合体在核膜上的定位和分布有关。核篮的端环中含有 p270/Tpr 蛋白，与核质中的特异性核网架结构相连。

在酵母和其他物种中的研究表明，绕中央栓存在的辐射状结构非常保守。最近对低度纯化的酵母核孔复合体的研究表明，酵母的核孔复合体中也存在有胞质丝和核篮

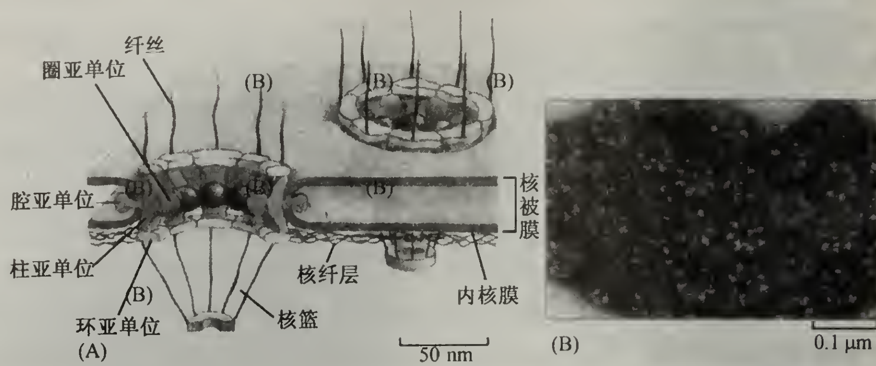


图 12－6　核孔复合体的电镜照片及其模式图解

(A) 核孔复合体的核篮模型(自 Alberts et al. 1998)；(B) 核孔复合体的经去垢剂抽提后的电镜图（自 Ohno et al. 1998）

结构。

核孔复合体主要由蛋白质组成，估计约有 50～100 多种，目前在酵母中已经鉴定出了 30 多种核孔蛋白(nucleoporin)(Doye & Hurt 1997)。核孔蛋白具有一些通性，常含有以二肽 (FG) 结尾的重复区段，核孔蛋白中的这些重复区段可能是与转运受体发生相互作用的位点；此外，在脊椎动物中，核孔蛋白常含有 O－连接的 N－己酰葡萄糖胺。核孔复合体中所出现的特异性结构成分表明，在核孔复合体中还存在有亚复合体成分。其中研究较清楚的是 p62 复合物，在非洲爪蟾中由 p62、p58 和 p54 三种糖蛋白组成，在小鼠中还含有 p45。p62 复合物定位在核孔复合体两侧或中央栓的末端附近，因此可能在运输物质的识别或移位中具有重要作用，因为缺少 p62 复合物的核孔复合体虽无明显的结构缺陷，但无法进行核蛋白的入核运输。

利用免疫电镜技术，已识别出了两类核孔蛋白 (nucleoporin)，它们是 gp210 和一组 O- 连接的糖蛋白。gp210 是一种跨膜的 N- 连接糖蛋白，具有信号肽和两个疏水性序列，其作用是将核孔复合体铆连到核膜上，以稳定核孔复合体的结构。这组 O- 连接的糖蛋白至少包括 8～10 种糖蛋白，构成一核孔蛋白家族(nucleoporin family)，其作用可能是构成胞质和核质的丝状物，直接参与胞质和核质之间的物质交换。核孔复合体在进化上高度保守。免疫交叉反应的结果表明，从酵母到人的核孔蛋白之间具有很高的同源性，而且核孔复合体的整个结构在进化上也具有很高的保守性。

2. 核孔复合体的功能

核孔复合体是核质与胞质之间进行物质交换的通道。经过核孔复合体的运输具有双向选择性，因此，可视它为一种特殊的跨膜运输蛋白复合体，主要参与被动运输(自由扩散)和主动运输两种运输方式(图 12－7)。核孔复合体的通道是一个充满液体的直径 9～10nm、长 15nm 的柱状通道，为一亲水性通道，只允许离子和水溶性小分子通过核孔进行自由扩散。经研究发现，运输分子的扩散速度与其大小成反比：小于 5kDa 的分子可自由扩散，大于 17kDa 的分子其扩散速度很慢，而超过 60kDa 的分子则很难扩散。

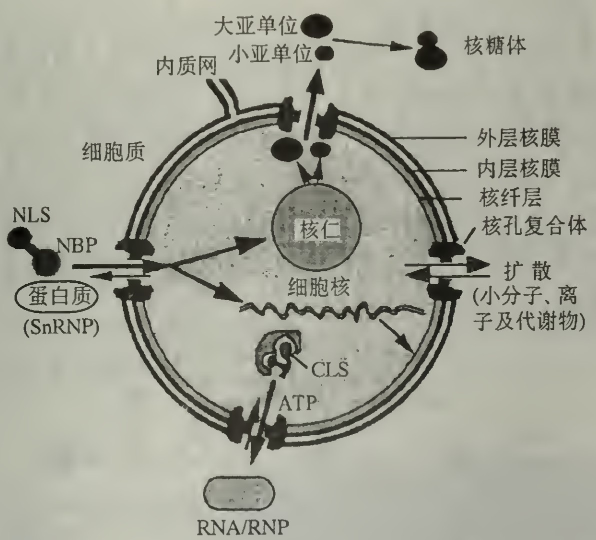


图 12－7 经由核孔复合体的核质间双向运输的路线图解

NLS,核输入信号;NBP,核输入信号结合蛋白

在经过核孔复合体的主动运输中，核孔复合体具有严格的双向选择性，如核蛋白的运进、RNA 和 RNP 颗粒等的运出，均是一个载体介导的过程。其选择性主要表现在以下三个方面：①对被运输物质在大小上加以限制：核孔在主动运输中的功能直径为 10～20nm，有时甚至可达 26nm，明显比被动运输中的功能直径大，而且核孔的功能直径是可以调节的，已知主动运输的最大底物可高达 25～30MDa；②核孔的主动运输是一个信号识别与载体介导的过程，需要消耗 ATP 来提供能量；③具有运进核和运出核的双向性，如 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶、组蛋白和核糖体蛋白等物质的运进，RNA 和核糖体亚单位等物质的运出。因此，经过核孔的运输非常繁忙。经计算，一个典型的正在合成 DNA 的哺乳类细胞，约有 3000～4000 个核孔复合体，每 3 分钟要将 10^6 个组蛋白分子从胞质中运进细胞核内，即每个核孔每分钟要运进大约 100 个组蛋白分子。如果生长迅速，则每个核孔还要将核内合成的各种成熟的 RNA 和核糖体亚单位运出细胞核。同时，一些离子和水溶性小分子的自由扩散也要通过核孔。由此可见，核孔的运输任务非常繁重。

(1) 核蛋白的运进：在细胞质基质中合成、运到核内执行功能的蛋白质，如 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶、组蛋白和核糖体蛋白等，称为亲核蛋白(karyophilic protein)。核质蛋白(nucleoplasmin)(一种酸性大的核蛋白，由头、尾两部组成，此蛋白质与核小体的装配有关）便是一种含量丰富的亲核蛋白，具有较大的头部和细长的尾部两个不同的结构域，尽管很大，但仍能通过核孔进入核内。利用蛋白酶水解法进行一定程度的水解，可把核质蛋白的头部和尾部切开，分别将头部和尾部注入到细胞质中，发现细长的尾部能进入核内，而较大的头部不能进入核。头部不能进入核内，是否仅仅是因为它太大了呢？为了验证这一点，将尾部结合到直径 20nm 的胶体金颗粒上，结果发现，结合有尾部的胶体金颗粒尽管很大，但仍能通过核孔进入核内（图 12－8)。因此很显然在尾部可能存在有一种能控制核质蛋白进入核内的信号，就是在它的引导下，才使得很

大的核质蛋白能进入核内。经研究发现，亲核蛋白均含有一段特殊的氨基酸序列，称为核输入信号（nuclear import signal），它是由 4～8 个氨基酸构成的一个短肽，富含 Lys、Arg 和 Pro 等带正电的氨基酸。此信号与信号肽不同的是它可以定位在亲核蛋白的不同部位，而不仅仅是位于 N- 末端，而且在进入核后也不被切除。第一个被证实具有核输入信号的亲核蛋白是病毒 SV40 的 T 抗原，该蛋白是 SV40 在宿主细胞核中复制病毒 DNA 所必需的一种调控蛋白。T 抗原在细胞质中被合成后，很快进入细胞核内，启动病毒 DNA 在核内的复制。在 T 抗原中发现有一段“Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val”序列为核输入信号，且当其中某个氨基酸残基如第四位的 Lys 突变为 Thr 时，T 抗原便不能进入细胞核。但到目前为止，在已鉴定出的多种不同核输入信号之间还未发现有共同的特征性序列。

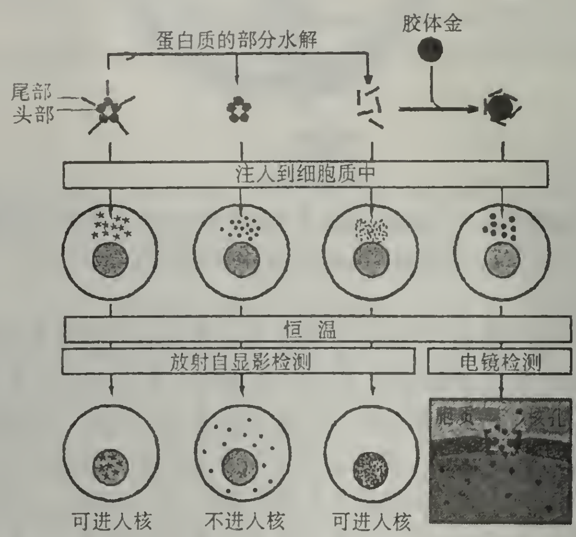


图 12－8　非洲爪蟾卵母细胞中核质蛋白注射实验的图解

亲核蛋白经核孔复合体主动被运进核，除要依赖核输入信号外，还是一个载体介导的过程。在核质、核膜和胞质中均发现了多种核输入信号结合蛋白（nuclear import signal-binding protein，NBP），简称输入蛋白（importin），这些特异性的 NBP 在亲核蛋白的主动运输中起着衔接体（adaptor）的作用。接载体又称核输入受体（nuclear import receptor）（参见第十四章），存在于胞质中，可协助亲核蛋白入核。在胞质中，具有核定位信号的亲核蛋白通过接载体输入蛋白 α 的协助与输入蛋白 β 相结合，经核孔被运入细胞核内。进入核后，卸载的输入蛋白 α 和 β 则以一定的方式出核，返回胞质，参与接载作用的再循环。核孔复合体处的主动运输是一个耗能过程。经研究发现，在核孔复合体上还结合有 Mg^{2+}-GTPase，可水解 GTP 为主动运输提供能量。

(2) RNA 和核糖体亚单位的运出：RNA 和核糖体亚单位的运出机制，还有待于进一步研究。据分析，可能也是一个具有选择性的受体介导的主动运输过程。其选择性主要表现在，RNA 只有在经过转录后加工并成熟后才能经核孔被运出细胞核。在核中新转录的异质性的不均一核 RNA（heterogeneous nuclear RNA，hnRNA）分子不能被运出细胞核，而只能存在于核内。hnRNA 合成后随即与蛋白质结合，形成了 hnRNP。hnRNP 只有在加工成各种成熟的 RNP 后，才能被运出细胞核（图 12－9）。又如小胞质 RNA

(small cytoplasmic RNA, scRNA) [存在于细胞质中的小 RNA 称为小细胞质 RNA,如信号识别颗粒中的 7S RNA(参见第十四章)], 与蛋白质结合后形成 scRNP, 成熟的 scRNP 的运出也需要依赖于特异性信号。经研究发现,成熟 mRNA 和 scRNA(RNA 聚合酶Ⅱ负责转录)的运出需要依赖于其 5′-端的 m^7G 帽。具有 m^7GpppG 子的 RNA 可被运出细胞核,而缺少 m^7G 帽子的 RNA 则不能被运出细胞核。成熟的 rRNA 在核内结合上核糖体蛋白而变成核糖体亚单位,以 RNP 的形式依赖于受体的介导被运出细胞核,受体对 rRNA 或核糖体蛋白质具有识别能力。5S rRNA 和 tRNA(由 RNA 聚合酶Ⅲ负责转录) 的运出是一种蛋白质介导的过程。5S rRNA 必须与核糖核蛋白 L5 或转录因子 TFⅢA 结合后才能被运出细胞核。此外, 核糖体亚单位较大 (直径 15nm), 要经直径 9nm 的核孔运出, 其运出时的变化尚不清楚, 很可能其本身要发生变形或是核孔的功能孔径变大,或是二者兼有。

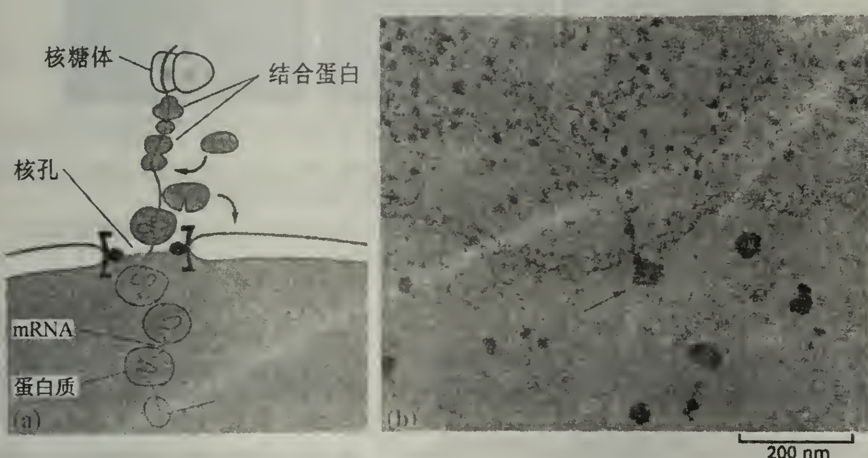


图 12-9　RNA 运出细胞核的模式图解(a)及其电镜照片(b)
mRNA 以 mRNP 的形式经核孔被运出核

综上所述, 核孔复合体对亲核蛋白的运进和各种 RNA 和核糖体亚单位的运出均具有高度选择性,运输过程既涉及主动运输又存在有被动运输。其主动运输是一个信号识别与载体介导的过程,需要消耗 ATP 来提供能量。

另外,在有些细胞的胞质中,还存在有由类似核膜的双层膜组成的结构,而且有核孔复合体的结构, 许多双层膜相互叠置在一起,称环状片层(annular lamina)。多存在于生殖细胞和一些快速增殖的细胞如精母细胞、卵母细胞、胚细胞和肿瘤细胞中。经研究发现,环状片层的存在与细胞的快速增殖有关。有人认为它来源于核膜, 而有人认为它来源于糙面内质网,仍一直争执不下。其上的核孔复合体含有核糖核蛋白 (RNP), 环状片层能保护 RNP 不受胞质中核酸酶的降解。一旦需要, 环状片层便发生崩解而将 RNP 释放于胞质中。因此,一般认为这种环状片层结构是 RNP 在细胞质中的临时贮存场所。

(三)核纤层

核纤层是结合在内层核膜的内表面、由中间纤维相互交织而形成的一层高电子密度的蛋白质网络结构。最初发现于原生动物和无脊椎动物中,厚约 100nm。后来,随着

电镜技术的提高，在各种脊椎动物中也发现了核纤层，说明核纤层在所有真核细胞中普遍存在。核纤层的厚度随细胞种类不同而有差异，一般厚约 10～20nm，最厚者可达 30～100nm。在脊椎动物中，核纤层由三种中间纤维多肽交织而成，分别称为核纤层蛋白(lamins)A、B 和 C，相对分子质量为 60～80kDa，它们在内层核膜和染色质之间形成了一层网络状结构（图 12-10），在近核膜的一侧，核纤层蛋白 B 与内层核膜中的特定受体（lamin receptor）相结合，其受体蛋白为内层核膜中的整合膜蛋白，分布在核孔复合体的附近，以一定部位与核孔复合体的核质环相连；在近染色质的一侧，核纤层蛋白 A 和 C 则可与染色质上的特殊位点相结合，为染色质提供附着位点(图 12－11)。

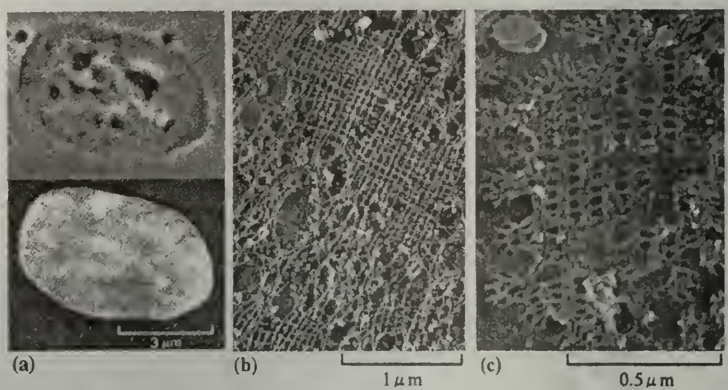


图 12－10　核纤层的免疫组织化学和电镜图像

(a) 利用核纤层蛋白荧光抗体染色后所显示出的核纤层的立体图像；(b) 核纤层的电镜图像；(c)为(b)的进一步放大

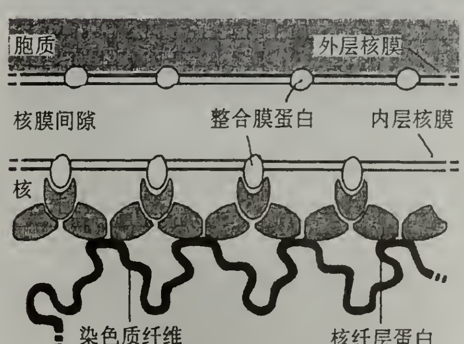


图 12－11　核纤层结构的模式图解

核纤层是由三种核纤层蛋白交织而成的网络状结构，核纤层一方面通过核纤层蛋白受体与内层核膜紧密结合在一起，另一方面为染色质纤维提供附着位点

核纤层的功能与维持核孔的位置和核被膜的形状有关，同时它又为间期染色质提供附着位点，是染色质的结构支架。此外，在有丝分裂过程中，核纤层还与核被膜的解体和重建有关。在分裂前期末，核纤层蛋白被磷酸化，核纤层解体，进而使核被膜发生解体；而在分裂末期，核纤层蛋白去磷酸化，重新组装成核纤层，从而又导致核被膜的重建(图 12－12)。

二、染色质和染色体的分子结构

在光学显微镜下可看到间期核中有一种嗜碱性很强的物质称为染色质(chromatin)，是遗传物质的存在形式。在间期核中，染色质以两种状态存在，有的是伸展开的呈电子透亮状态，称为常染色质(euchromatin)，另一种是卷曲凝缩的，称为异染

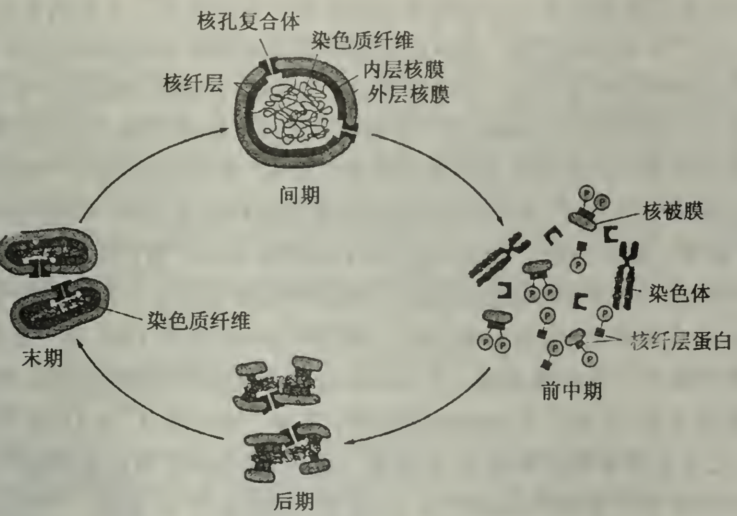


图 12-12 核纤层蛋白磷酸化和去磷酸化与有丝分裂过程中核被膜解体及重建的关系图解

色质(heterochromatin)。染色质和染色体是遗传物质在细胞周期不同阶段的存在形式，染色体是在细胞分裂过程中由染色质凝缩而成的棒状结构，二者的化学组成没有多大差异。

(一)染色质的分子结构

1. 染色质的基本结构单位——核小体

真核生物间期核的染色质在电镜下呈颗粒状，直径约 20nm。用不同的方法进行处理时，核染色质表现为 3 种不同粗细的纤维状结构。如果将核破碎，使染色质铺展开，则显现为 20~30nm 的纤维，而且螯合剂处理的染色质则表现为由颗粒组成的 10nm 粗的纤维；如果分离出的染色质用尿素处理，则会出现 2~4nm 的纤丝。2~4nm 的纤丝相当于 DNA 双螺旋。较粗的两种纤维则是染色质的基本结构，称为染色质纤维(chromatin fiber)，20~30nm 的称为粗纤维，10nm 粗的称为细纤维。每条染色质纤维即为一条脱氧核糖蛋白分子。通常所称的染色质纤维是指 20~30nm 的粗纤维(图 12-13)。

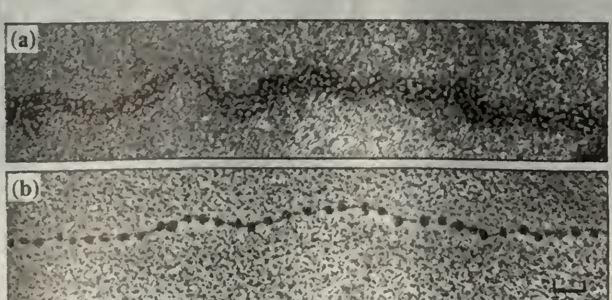
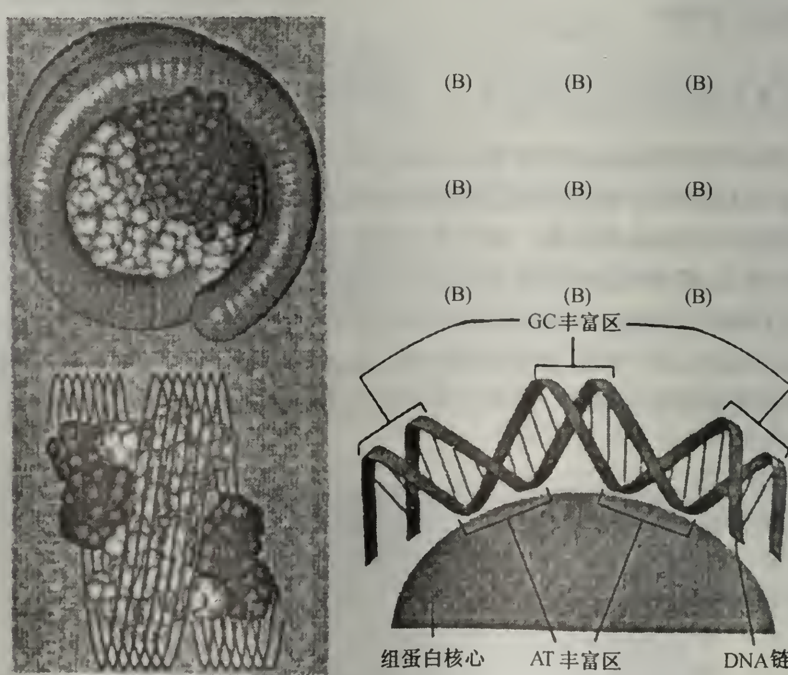


图 12-13 染色质粗纤维(直径 30nm)(a)和细纤维(直径 10nm)(b)的电镜照片
30nm 粗纤维为染色质的自然状态，而 10nm 细纤维为消化处理后产生的细线状结构

关于染色质纤维的分子结构和不同粗纤维之间的关系，学者们曾进行了细致的研究。20 世纪 70 年代初发现，染色质经葡萄球菌核酸酶 (staphylococcal nuclease) 消化后，DNA 链被切成许多片段，长度为 200bp、400bp、600bp、800bp 不等，而基本单元为 200bp。这些片段之所以没有被进一步消化，是由于结合了蛋白质而受到保护。根据染色质的电镜图像、生化测定数据和光衍射分析等，R. Kornberg 于 1974 年提出了关于染色质结构的念珠模型。他主张，染色质的基本结构是由 DNA 和蛋白质组成的重复单位，每个亚单位是由 200 个碱基对的 DNA 链结合有 9 个蛋白质分子组成，这种组蛋白 DNA 亚单位称为核小体 (nucleosome)。核小体的核心为 8 个组蛋白分子，染色质丝由许多核小体连接而成，形似一串念珠。相邻核小体之间的 DNA 链，类似结构关节，可使染色质纤维进一步折叠盘曲。在 Kornberg 提出的念珠模型的同时，有的学者又得到了一些实验证据，支持了 Kornberg 的主张。D. E. Olins 和 A. L. Olins 用温和的方法将核破碎，把染色质铺展到铜网上，在电镜下看出，染色质纤维的基本结构是由许多小球状颗粒结构串联而成的染色质丝为 10nm 粗。观察前用 0.7mol/L HCl 处理染色质，将 H_1 组蛋白去掉，则念珠图像更加清晰。由此推想，H_1 组蛋白似是结合在核小体之间的 DNA 连接段上。而 H_2A、H_2B、H_3 和 H_4 组蛋白构成了核小体核心的蛋白。

自 20 世纪 70 年代末以来，对核小体的分子结构研究得更加清楚。核小体核心 (nucleosome core) 是由约 147bp 的 DNA 缠绕 8 个组蛋白分子而组成(图 12－14)。核心蛋白为一个八聚体，由 H_3 二聚体和 H_4 二聚体形成一个四聚体，即 $(H_3)_2(H_4)_2$，在此四聚体的两侧各结合上了 1 个 H_2A、H_2B 二聚体。根据 Kornberg 及 Klug 等学者的描绘，



(a)　　　　(b)

图 12－14　核小体中 DNA 与组蛋白核心在空间和结构上的关系图解

(a)核小体中 DNA 与组蛋白核心的空间位置关系图解，示 DNA 缠绕在组蛋白核心的外围；

(b) 缠绕在组蛋白核心上的 DNA 的结构特点，示 DNA 中 AT 丰富区靠近组蛋白核心，

而 GC 丰富区背向组蛋白核心(自 Alberts, et al. 1994)

核心颗粒的 8 个组蛋白分子的排列方式如图 12-15 所示。后来研究表明，在核心组蛋白八聚体的外面，DNA 分子用了约 147bp 盘绕了 1.8 圈。DNA 分子用了约 165bp 以在核心组蛋白上绕了 2 圈后，结合上 H_1 组蛋白，锁住了 DNA 分子的进出口，形成稳定的结构。这种由 H_1 组蛋白、165bp 和核心组蛋白八聚体组成的稳定的颗粒结构称为染色质小体(chromatosome)。核小体重复单位中，不和核小体核心结合而连接在染色质小体之间的 DNA 分子链称为连接区 DNA(linker DNA)。重复单位含 200bp 者，其连接区的长度约为 35bp。核小体核心颗粒呈圆盘形。直径约 10nm，由核小体重复单位靠拢排列组成了 10nm 粗的核小体丝(nucleosome filament)即染色质丝(chromatin filament)。

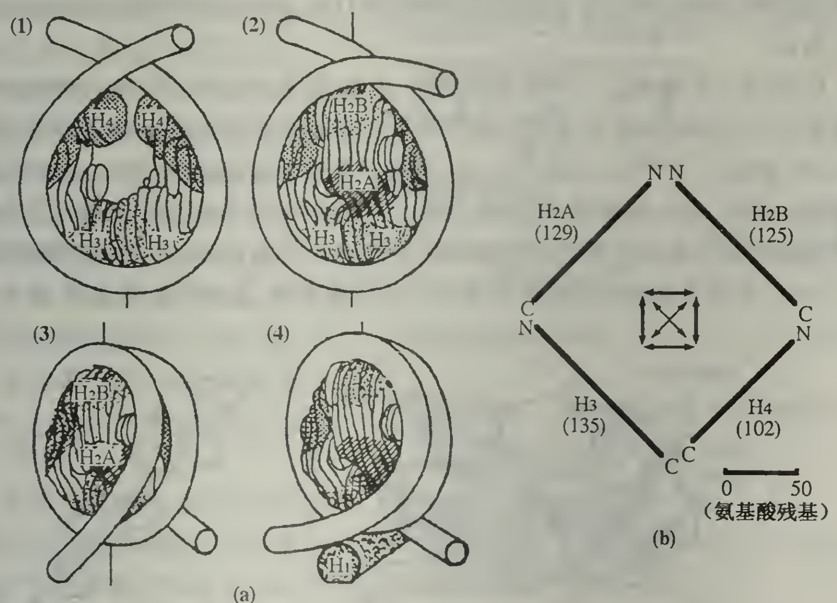


图 12－15　核小体结构的分子剖析图及核心组蛋白中 4 种组蛋白的相互作用

(a)核小体结构的分子剖析图(斑痕示组蛋白分子的位置)：(1) DNA 以$(H_3)_2(H_4)_2$四聚体为轴心，缠绕一圈，约用了 70～80 个碱基对；(2)、(3) H_2A、H_2B 两个二聚体分聚在四聚体的两侧，各结合了 30～40 个碱基对各占半圈 DNA，使 DNA 缠绕组蛋白核心整整两圈；(4) H_1 组蛋白同 DNA 的进出端相结合，封闭了核小体的核心(自 Klug & Butler, 1984)。

(b) 牛胸腺组蛋白核心颗粒和 4 种组蛋白的相互作用图解。外围的线条代表多肽链，括号内数字示多肽链的氨基酸残基数，N 和 C 分别代表多肽链的氨基端和羧基端，右下侧的棒线为氨基酸残基数的比例尺；中央的双箭头线表示 4 种组蛋白相互作用的强度，线条的粗细与相互作用强度成正比(自 Thorpe, N. O.)

核小体核心颗粒的 DNA 分子双螺旋同 4 种组蛋白有一定的相互作用部位，$(H_3)_2(H_4)_2$ 四聚体规定了 DNA 缠在颗粒上的中心圈，而 2 个 $(H_2A)(H_2B)$ 二聚体分居两侧，因而，即使没有 H_2A 和 H_2B，只有 H_3 和 H_4 也能同 DNA 结合成类似的核小体，可是只有 H_2A 和 H_2B 则形不成核小体颗粒。

核小体的形成是和组蛋白的化学性质分不开的，组蛋白分子中所含的氨基酸性质不同，从而使组蛋白分子分成了性质不同的区域。一个是不带电荷的疏水区，向着核心的内部，使蛋白质分子易于团聚起来；另一个是带正电荷的区域，多为氨基端的半条链，分布在颗粒的表面，可和 DNA 带负电荷的磷酸基紧密结合，这种结合是非特异性的，与 DNA 的核苷酸序列无关。在浓度为 2.0mol/L 的 NaCl 溶液中，可把核小体核心

蛋白去掉,这种反应是可逆的,当把 NaCl 的溶液浓度再降至原来水平时,DNA 同组蛋白又可重新结合,构成核小体,恢复了原来的结合关系。核小体重新装配的速度很快,无结构特异性, 甚至把本来不结合组蛋白的噬菌体 DNA 或在试管内合成的多核苷酸同脊柱动物组蛋白一起温育,也可形成核小体结构。

核小体的核心较稳定,而连接区易被核酸酶所消化。连接区具有柔性,为染色质丝的进一步折曲提供了方便。DNA 的 200bp 的长度为 68nm。核小体的直径约为 10nm。因此染色质丝与 DNA 螺旋的长度压缩比为 1: 7,各种组织的核小体核心部分的 DNA 长度很恒定。而连接区的 DNA 长度各个物种有所不同, 酵母的最小为 0,海鞘精子的最长为 100bp, 由于 DNA 连接区长度不同, 所以不同细胞中, 每一个核小体中的 DNA 基本单元长度有差异, 如鸡的肝细胞则只有 195bp, 最短的只有 160 ~ 170bp(连接区为 0)。

H_1 组蛋白是最大的一种组蛋白分子,比 H_3 或 H_4 大了一倍。核小体经微球菌核酸酶消化后,其 DNA 长度由 200bp 减到 165bp,最后减少到 147bp。只有消化到 165bp 以下时,H_1 组蛋白才消失。由此可见,H_1 组蛋白是结合在连接区 DNA 上。它在核心颗粒的表面上横跨 DNA 螺旋圈,同缠绕在核心上的 DNA 进头和出头相结合。H_1 组蛋白的作用是保持染色质粗纤维的高级结构和保护核心上的 165bp 不易被核酸酶所消化(图 12 - 16)。染色质经微球菌核酸酶消化可逐步被分解,分解的步骤如图 12 - 17 所示。

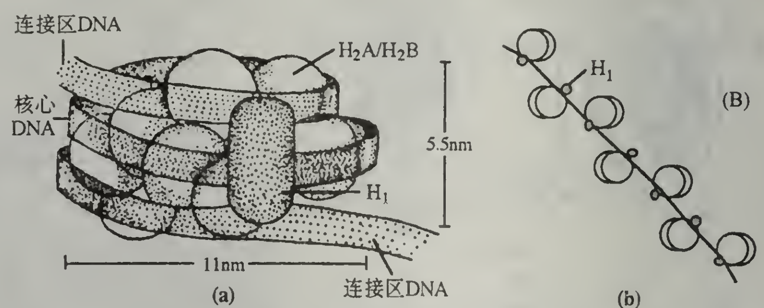


图 12 - 16　H_1 组蛋白在核小体结构中的位置及核小体丝的模式图解

(a) 核小体结构中 H_1·及其他组蛋白的位置关系。核小体核心由 146 ~ 147 个 DNA 碱基对缠绕核心八聚体形成,结合上 H_1 后便构成了稳定的染色质小体, 含有 165 ~ 166 个碱基对, DNA 的进头和出头为 H_1 所封闭。(b) 核小体丝的模式图解。染色质小体靠连接区 DNA 相互连接在一起,形成锯齿状的核小体丝结构

但在染色质的一些特异性位点上,不形成核小体的结构,这些区域较短,含有几百个碱基对的特异性碱基序列,易被 DNase I 降解,是核酸酶的超敏感位点(nuclease hypersensitive site),为非组蛋白等 DNA 特异性结合蛋白所识别,在基因表达的调控中具有重要作用。

DNA 的复制和 RNA 的转录均涉及核小体结构的变化。在 DNA 复制时, 要发生核小体的局部解体和组蛋白八聚体的全保留式组装(即新旧组蛋白不相互混合)。

离子强度的变化对染色质纤维的结构有明显的影响。在低离子强度(1mol/L)下,染色质展开成 10nm 核小体丝,为一串松散的核小体。随着离子强度的升高。H_1 组蛋白分子间的相互作用面积增大, 核小体丝逐渐折屈成锯齿形, 进而卷曲成螺旋管(solenoid),即 30nm 染色质粗纤维。螺旋管的每圈由 6 ~ 8 个核小体围成,H_1 组蛋白位

于螺旋管腔的内表面(图 12－18)。H1 对 10nm 丝盘绕成 30nm 纤维起着重要作用,去掉 H1,则核小体丝不再能卷曲成 30nm 纤维。

2. 常染色质与异染色质

间期细胞核中的染色质有异染色质 (heterochromatin) 和常染色质 (euchromatin) 之分。所谓异染色质是指在间期和早前期中，染色质仍处于凝缩状态的那些区段，未凝缩的部分则称为常染色质。一般,间期中一条染色体上既有常染色质区段,也有异染色体区段。异染色质区段主要存在于动、植物细胞的着丝粒区、端粒(特别是植物细胞)和核仁组织区附近，也有的染色体完全是由异染色质所组成，这种染色体称为异染色体 (heterochromosome),如许多物种的性染色体。一般认为,异染色质是仍处于 20～30nm 纤维的染色质区约占染色质总量的 90%。

异染色质通常具有 3 个特点：①在间期中处于凝缩状态；②是遗传惰性区，只含有极少数不表达的基因；③复制时间晚于其他染色质区域。

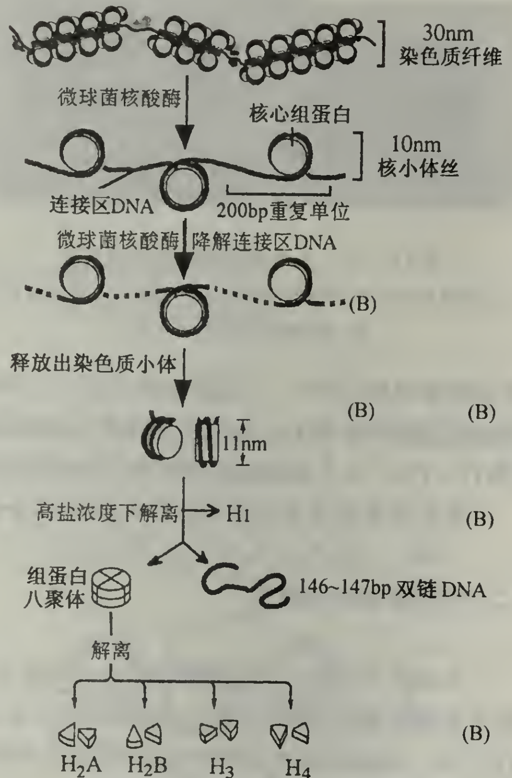


图 12－17 染色质经微球菌核酸酶逐步消化降解的模式图解

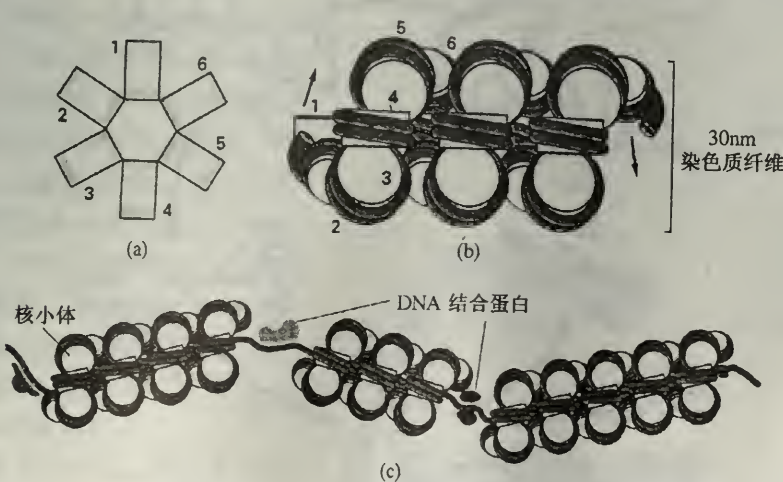


图 12－18 30nm 染色质纤维结构的模式图解

(a)螺旋管的正面观,螺旋管的每一圈由 6～8 个核小体围成,H_1 具有稳定 30nm 纤维的作用;(b) 螺旋管侧面观;(c) 30nm 染色质纤维的模式结构

异染色质可分为两种类型，一种是在各种细胞中总处于凝缩状态，最后进行复制的，称为恒定型异染色质(constitutive heterochromatin)，亦译作组成型异染色质。另一种，只是在几种细胞中或在一定的发育时期和生理条件下可变为常染色质的，则称为兼性异染色质(faculative heterochromatin)。恒定型异染色质最常见的部位是染色体的着丝粒区、端粒和次级缢痕处，其含量占染色体DNA的5%～10%，果蝇(*Drosophila virilis*)中最多可达40%。这种类型的异染色质含有高度重复的DNA顺序。

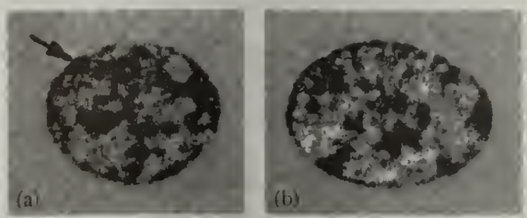


图 12－19　人口腔粘膜细胞的细胞核

(a) 细胞来自女性，核被膜内侧有巴氏小体；(b) 细胞来自男性，核被膜内侧无巴氏小体

兼性异染色质仅在某些细胞的特定发育阶段出现，了解最清楚的是哺乳动物的X染色体。雄性动物只有1个X染色体，完全是常染色质。雌性动物含有2个X染色体，其中1个总是常染色质，而另一个在胚胎发育到一定时间(人为第16天)变为凝缩的异染色质，因而在间期核中有1个X染色体呈现为浓密的颗粒性染色质，称巴氏小体(Barr body)(图12－19)。在人类和哺乳动物中，可利用X染色体的这一特征，来鉴别胎儿的性别。

恒定型异染色质在染色体结构的形成及染色体配对等方面具有重要作用。

(二)中期染色体的结构

在细胞周期的大部分时间内，遗传物质是以染色质的形式存在的。但粗纤维并不是染色体的恒定结构。在整个细胞周期中，染色体进行着凝缩和松展的周期性变化(图12－20)。在细胞有丝分裂的中期，形成高度凝缩的染色体(图12－21)。在中期具有特定形态结构的染色体称为中期染色体。

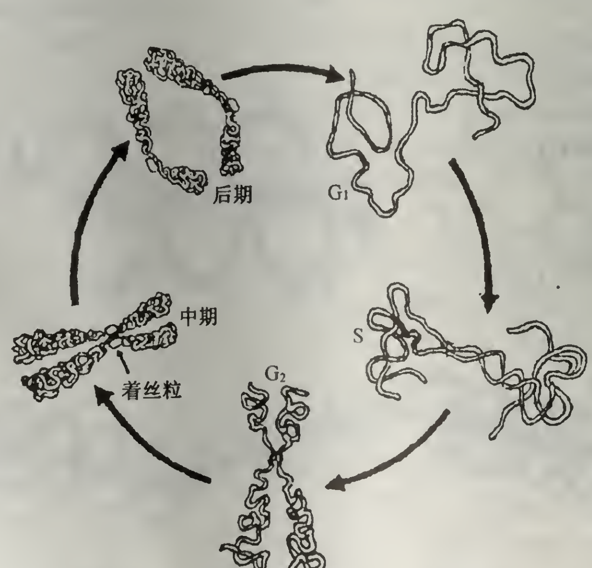


图 12－20　染色体在细胞周期中发生周期性变化的模式图

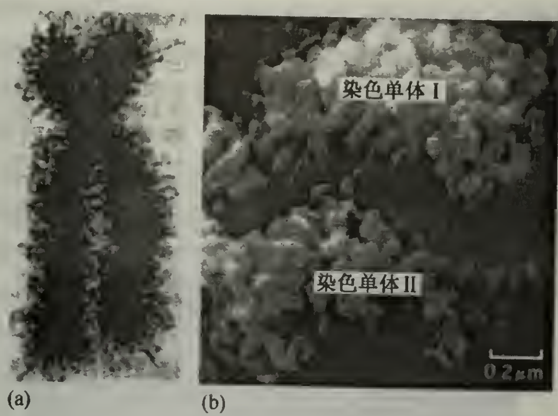


图 12-21　分裂中期高度凝缩染色体的形态
(a)中期染色体的整体形态；(b)中期染色体端部的局部放大

1. 中期染色体结构的形成

以人为例，每条 DNA 分子的平均长度约 5cm，而细胞核的直径只有 5～10μm 左右，故 DNA 分子要压缩一万倍左右才能被容纳在细胞核内的狭小空间里。

有丝分裂中期高度凝缩的染色体只有 DNA 双螺旋长度的 1/5 000～1/10 000。由此可见，由 30nm 纤维卷曲成中期染色体，显然还要经过几级的卷曲，虽然这几级卷曲的精确方式目前还不清楚。但是根据推测，粗纤维还要经过卷曲，使 DNA 分子的长度压缩到 1% 以下，以存在于直径不到 5μm 的核中，现在一般认为的方式是这样的：

DNA 双螺旋→由核小体组成的 10nm 纤维→30nm 粗纤维→超粗纤维→染色体(中期)(图 12-22)但超粗纤维以上的压缩方式尚不完全清楚。

通常，大家把由 10nm 粗染色质纤维到装配成中期染色体分为四级结构水平。由核小体组成的 10nm 纤维为一级结构，30nm 粗纤维为二级结构，压缩比例> 1000 倍结构为三级结构，中期染色体（压缩比例 > 10 000)为四级结构。

染色体是由 30nm 粗纤维经过几级卷曲而成。30nm 粗纤维的进一步卷曲，需有结构非组蛋白参加，形成支架。中期染色体经聚阴离子葡聚

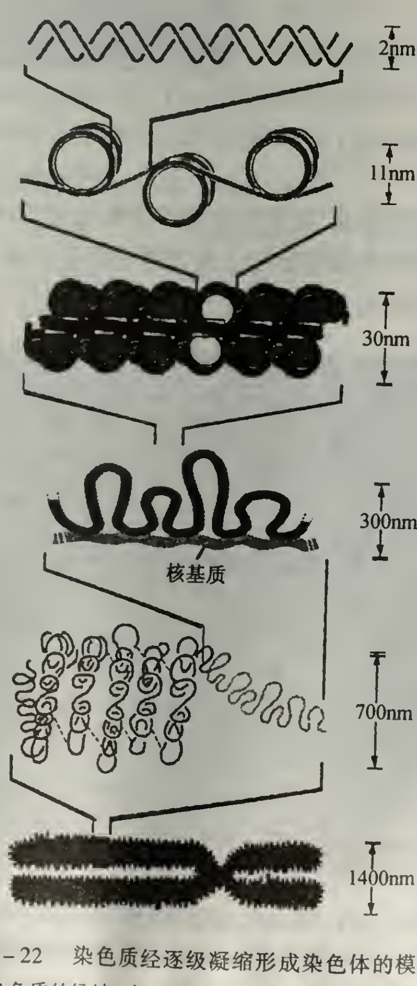


图 12-22　染色质经逐级凝缩形成染色体的模式图
10nm 染色质丝经过 4 级压缩，形成了高度凝缩的中期染色体

糖硫酸(polyanion sulfate,PDS)处理,可将组蛋白去掉,因 PDS 可同 DNA 竞争和碱性组蛋白结合。去掉组蛋白的染色体周围布满了松展开的裸露 DNA 丝(图 12-23)。由非组蛋白构成的支架仍可保持着染色体的基本轮廓，特称为染色体骨架（chromosome scaffold)。染色体骨架是染色体中真实存在的结构,为核骨架的成员之一。中期染色体



图 12-23　染色体去掉组蛋白的电镜照片

由非组蛋白形成了 2 个支架,每一染色单体占据一个支架,2 支架在着丝粒处相连。支架周围为松展开的 DNA 丝

(自 Poulso et al.　1977)

含有 2 个骨架,每个染色单体占有 1 个骨架。展开的 DNA 丝为长 25μm(75 000bp)袢,袢的两端连接到骨架上相靠近的部位。根据去掉组蛋白的染色体电镜图像,提出了一个关于染色体结构的模型（图 12-24)。连接在由非组蛋白组成的染色体骨架上的

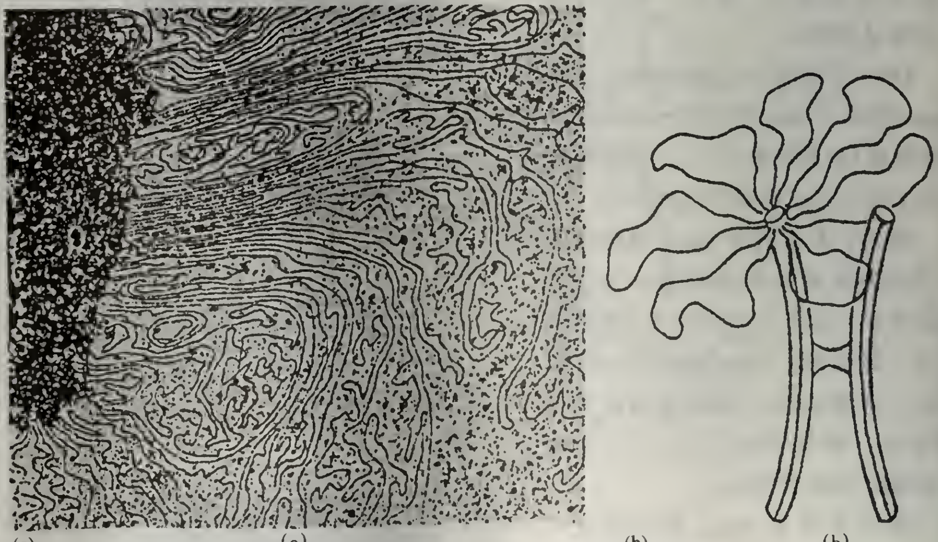


图 12-24　人染色体去掉组蛋白后 DNA 连接在非组蛋白支架上的电镜图像及其模式图解

(a)DNA 袢环的两端连接到支架上的相邻部位;(b) DNA 袢环与非组蛋白支架连接方式的模式图解

(自 De Robertis　1980)

DNA,长达 25μm,经 40 倍压缩后,才可成为 30nm 的粗纤维,长度缩小到 0.6μm,这一长度与中期染色体的直径相当(1μm)。

2. 中期染色体的分子结构

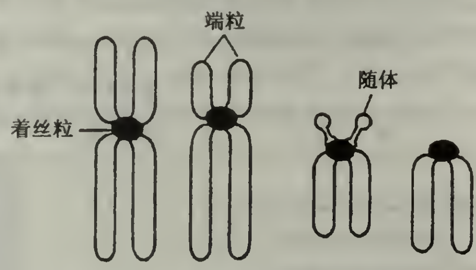


图 12-25 染色体可根据着丝粒的位置分为四种类型

中期染色体上有高度分化的区域,比较细的区域称为缢痕 (constriction),着丝粒 (centromere) 处的缢痕称为主缢痕(primary constriction)。除了着丝粒处的主缢痕外,其他处的缢痕均称为次缢痕(secondary constriction)。有的染色体在一末端附近有一次缢痕,是核仁组织区(nucleolus-organizing region, NOR) 所在部位,这种具有核仁组织区的染色体称为核仁组织染色体。

染色体由着丝粒划分为两部分,即两个臂(arm)。染色体组(chromosome complement)中各对染色体的着丝粒位置不同,故各染色体两臂的长度不同,根据着丝粒的位置不同,将染色体分为四种,其形态见图 12-25 和表 12-1。

(1)中央着丝粒染色体(metacentrics): 着丝粒在染色体中央,两臂等长。

(2)亚中央着丝粒染色体(submetacentrics): 着丝粒略偏中央,两臂长短不等。

(3)近端着丝粒染色体(acrocentrics): 着丝粒远离中央,两条臂长度差别很大。

(4)端着丝粒染色体(telocentrics): 着丝粒在一端,只有一条臂。

表 12-1 四类染色体的分类标准 (据 Levan 1964)

染色体类型	相对长度	臂指数	着丝粒指数	染色体的臂数
中央着丝粒染色体	对于不同染色体,该数值不同	1.0~1.7	50.0~37.5	2
亚中央着丝粒染色体		1.7~3.0	37.5~25.0	2
亚端部着丝粒染色体		3.0~7.0	25.0~12.5	2
端部着丝粒染色体		7.0~∝	12.5~0	1

注: 1. 相对长度: 指单个染色体的长度与包括 X 染色体在内的单倍体染色体总长度之比,相对长度 = 单条染色体的长度/(单倍常染色体 + X 染色体)的总长度 × 100%;
2. 臂指数: 指染色体长臂与短臂的比率,臂指数 = 长臂/短臂;
3. 着丝粒指数: 指短臂占整个染色体长度的比率,着丝粒指数 = 短臂/整个染色体长度 × 100%,该比率决定了着丝粒在染色体中的相对位置;
4. 染色体的臂数: 对于端部着丝粒染色体,臂数为 1,其他为 2。

各种生物的体细胞的染色体一般成对存在,每一对染色体的形状、大小和着丝粒的位置相同,这一对染色体互称为同源染色体。体细胞的染色体组为二倍体(diploid),用 2n 表示;成熟的生殖细胞中,染色体数为体细胞的一半,故称为单倍体 (haploid),用 1n 表示;有些物种的染色体成倍增加形成多倍体 (polyploid),用 4n、6n 和 8n 表示。在同一动物体内也存在不同倍体的细胞,如大鼠肝中同时有 2n、4n、6n 和 8n 等多倍体肝细胞。在生物界中,不同生物物种的染色体数目是相对恒定的,这对保持物种的稳定性具有重要意义(表 12-2)。一般说来,正常细胞中的染色体均呈整倍性(染

色体数为 n 的整倍数）存在，但一些转化细胞如肿瘤细胞的染色体数往往呈现出非整倍性（一般大于 $2n$）。

在这里使用了“染色体组”一词，同染色体组有关的名词还有染色体套（chromosome set）和基因组（genome），这三个名词所指的对象是不同的，应予以区别。

染色体组（chromosome complement）：指一个配子或合子核，或体细胞核所携带的全部染色体，故可指单倍体，也可指二倍体或多倍体核所含的全部染色体。

表 12－2　各种生物的单倍体染色体数目

种　类	染色体数目	种　类	染色体数目
人	23	蝾螈：*Triturus cristatus*	12
果蝇：*Drosophila melanogaster*	4	*Notophthalmus viridescens*	11
Drosophila vivilis	6	无肺蝾螈：*Plethodon cinereus*	14
摇蚊：*Chironomus tenlans*	4	*Batrachoseps atennatus*	13
Chironomus plumosus	6	小鼠（*Mus musculus*）	20
飞蝗（*Locusta migraforia*）	12/13	中国仓鼠（*Mesocricetus auratus*）	11
	（XO/XX）	金仓鼠（*Mesocricetus auratus*）	22
非洲爪蟾：*Xenopus laevis*	18	原鸡（*Gallus gallus domesticus*）	78
Xenopus tropicalis	10		
豹蛙（*Rana pipiens*）	13		

染色体套（chromosome set）：指在真核生物中由物种的必需染色体各 1 条所组成的有活力的最小染色体组。在基本染色体套中的染色体数称为基数（basic number）。一般说来染色体套代表 $1n$ 染色体；如果可育配子为二倍体或多倍体，则是次级基本染色体套（secondary basic chromosome set），这样 1 套染色体的数目称为次级基数（secondary basic number）。

基因组（genome）：指真核生物 1 个物种的基本染色体套（由物种特定数目的连锁群组成）所含的全部基因。原核生物只有 1 个连锁群，故其基因组则指 1 个连锁群中所含的全部遗传因子。染色体的数目和大小反映了基因组的大小。通常以单倍体染色体组中的 DNA 克数（pg）来表示基因组的大小，称为 C 值（C value）。二倍体细胞的 DNA 量为 2C，单倍体细胞的 DNA 量为 1C。

为了便于理解染色体的各部结构，现将构成其各部分的代表性结构分别加以叙述。

（1）着丝粒（centromere）：着丝粒为有丝分裂时纺锤丝附着的部位。着丝粒处的染色体较细，称为主缢痕。着丝粒是染色体的一个组成部分，在电镜下可以看出，纺锤丝并不直接和着丝粒相连，而是连接在着丝粒一侧的一个盘状蛋白质结构上，这一结构称为动粒或着丝盘（kinetochore）。动粒在电镜切片上呈三层式结构，中间层密度小，而两侧两层密度大（图 12－26）。内层同着丝粒紧密相连，每一动粒上可连接有 4～40 条微管，动粒的直径约 0.20～0.25μm，外层厚约 40nm，外层连有纺锤丝微管。绝大部分染色体微管连接于动粒的外层，但也有少数微



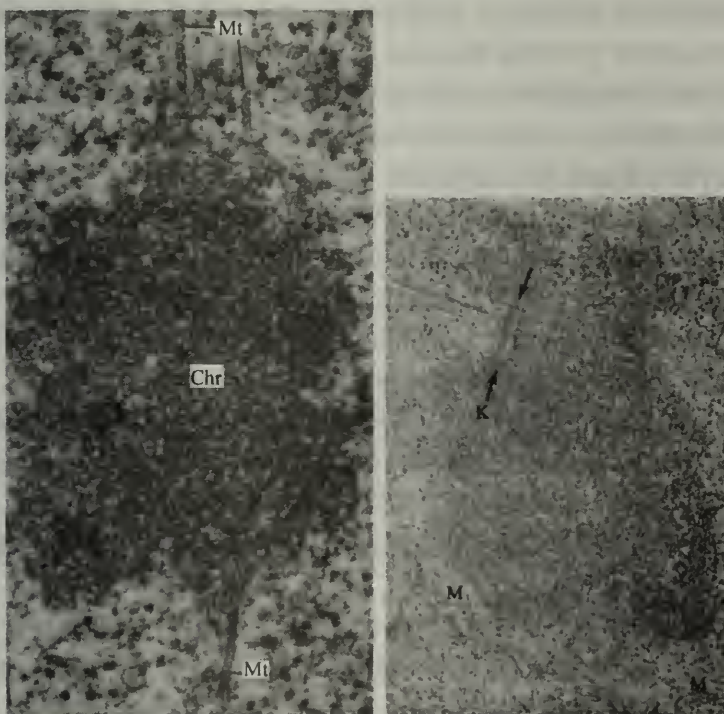
(a)　(b)

图 12－26　染色体的着丝粒和动粒的电镜图像

(a)显示着丝粒形态的免疫荧光照片；(b)动粒的电镜图像

管穿过外层，甚至和染色质丝相连。动粒主要有两种类型；一种如上述，为三层式结构，存在于动物和少数低等植物中；另一种为杯球状的，存在于高等植物中。后种在电镜下表现为，染色体朝向纺锤体极的表面有一杯形凹陷，宽约 1.5μm，杯底有一团无结构的球形物质(0.8μm)，球形物质的电子密度低于染色体，纺锤体微管和球形物质相连。

有些昆虫（如蜜蜂、马蜂）、植物（如地杨梅，*Luzula*）和一些藻类，没有集中的动粒区，染色体上有许多部位和微管相连，每一部位都有一动粒样的物质。某些显花植物（如非洲罗兰）和酵母没有明显的动粒结构，微管直接和染色质相连（图 12－27）。



(A)　　(B)

图 12－27　动物与植物细胞有丝分裂时着丝粒区的形态差异

(A)示非洲紫罗兰(*Saintpalia ionantha*)细胞有丝分裂时，微管(Mt)插入到界限模糊的着丝粒区，×81 000；(A)中国仓鼠细胞有丝分裂时，微管与着丝粒区的动粒(K)结合，动粒在电镜下呈三层式结构（箭头所指）。染色体周围存在着一些膜碎片(M)，×39 000(自 Ledbetter, M. C. (A)and Stubblefield E. (B))

动粒和着丝粒无论是在空间位置，还是在结构和功能上均具有密不可分的关系，为此，Plata(1990)将哺乳动物细胞中染色体的主缢痕区域称为着丝粒－动粒复合体(centromere-kinetochore complex)，并提出了着丝粒－动粒复合体的结构模型，将其分为动粒结构域(kinetochore domain)、中心结构域(central domain)和配对结构域(pairing domain)三个结构域(图 12－28)。动粒结构域位于着丝

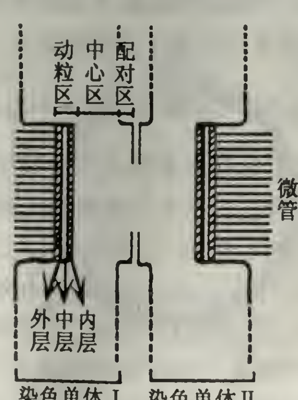


图 12－28　染色体的着丝粒－动粒复合体结构模型

示动粒的三层式结构

粒的外表面，包括三层式板状结构的动粒和围绕在动粒外层的纤维冠(fibrous corona)；中心结构域包括了着丝粒的大部分区域，位于动粒结构域的内侧，含有高度重复的DNA；配对结构域位于最内侧，为两条染色单体相互连接的区域。

着丝粒和动粒的体积较小，且蛋白质含量极微，为其化学组成研究带来了极大困难，对其化学性质还没有完全搞清楚。目前，已经在人类细胞中鉴定出了5类动粒蛋白(CENP)：CENP-A(17kDa)、CENP-B (80kDa)、CENP-C(140kDa)、CENP-D(50kDa)和CENP-E(250～300kDa)。这些动粒蛋白与细胞分裂密切相关，其中，CENP-A与着丝粒-动粒复合体处的染色质的组装有关；CENP-B位于中心结构域，与着丝粒-动粒复合体的形成有关；CENP-C位于配对结构域，与着丝粒-动粒复合体的功能发挥有关；CENP-D可能与染色体的凝集有关；而CENP-E可能在分裂细胞由中期向后期转变的过程中具有重要功能。用人的ACA抗体(anti centromere/kinetochore autoantibody)可以显示出由酵母、低等无脊椎动物、植物直到人类的动粒，只不过分子量略有不同罢了。由此可见，动粒蛋白在进化上是高度保守的。最近，在配对结构域还发现了内部着丝粒蛋白 (inner centromere protein, INCENP) 和染色单体连接蛋白 (chromatid linking protein, CLIP)，在染色单体的分离中具重要作用。另外，用抗微管蛋白抗体显示出，动粒中也含有微管蛋白，动粒具有微管组织中心的作用，当把中期染色体分离出来，同微管蛋白溶液(适当缓冲液)一起培育时，所有染色体的动粒上均重组成微管。

(2) 端粒 (telomere)：端粒为染色体端部的特化部分，位于染色体的端部，由端粒DNA与端粒蛋白构成，功能与维持染色体的稳定性、保证DNA的完全复制和参与染色体在核内的分布有关。在同源染色体配对时，端粒能结合在核膜上；端粒长时，细胞能分裂和存活；端粒短时，细胞不能分裂甚至不能存活。这与端粒酶的表达与否有关。

(3) 次缢痕(secondary constriction)：除着丝粒区主缢痕以外的其他缢痕。由于此处的部分DNA发生松解，故而变细。每种生物的染色体组中至少有一条或一对染色体上有次缢痕，可作为鉴定某条染色体的标志。有些次缢痕可形成核仁组织区。

(4) 核仁组织区 (nucleolus-organizing region, NOR)：核仁组织区位于染色体的次缢痕部位 (并非所有的次缢痕都是NOR)，此处伸出DNA袢环 (含有rRNA的基因)，可活跃合成18S、5.8S和28SrRNA，与核仁的形成有关。

(5) 随体 (satellite)：指染色体末端部分的球形或圆柱形的片段结构，通过次缢痕与染色体的主要部分相连。为识别染色体的重要特征之一。其中，端随体位于染色体的末端；中间随体位于两个次缢痕之间。

3. 染色体DNA的关键序列(key sequence)

染色体要确保在细胞世代中保持稳定，必须具有自主复制、保证复制的完整性而且能够平均分配到2个子细胞中的能力，即必须要具有能发挥这些能力的结构序列：自主复制DNA序列 (autonomously replicating sequence, ARS)、着丝粒DNA序列(centromere DNA sequence, CEN)和端粒DNA序列(telomere DNA sequence, TEL)。

(1) 自主复制DNA序列：自主复制DNA序列于20世纪70年代末首次在酵母的DNA序列中发现。对不同来源的自主复制DNA序列进行序列测定和分析的结果表明，它们都具有一段11～14bp的富含AT的高度保守序列，而且这段序列及其上游和下游约200bp的区段均对自主复制序列的功能是必需的。自主复制DNA序列具有一

复制起点，能确保染色体在细胞周期中能够自我复制，从而保证染色体在世代传递中具有稳定性和连续性。

(2) 着丝粒 DNA 序列：着丝粒 DNA 序列与染色体的分离有关。通过对不同来源着丝粒 DNA 序列的分析，发现它们均含有 2 个紧密相连的核心区，一个是 80～90bp 的 AT 区，另一个是 11bp 的保守区。利用着丝粒 DNA 序列的缺失损伤或插入突变实验发现，一旦改变这两个核心区中的序列，着丝粒 DNA 序列便会丧失其生物学功能。着丝粒 DNA 序列能确保染色体在细胞分裂时能被平均分配到 2 个子细胞中去。

(3) 端粒 DNA 序列：为一段短的正向重复序列，在四膜虫中，为一段重复 20～70 次的 3′-GGGGTT-5′序列。端粒 DNA 功能是保证染色体的独立性和遗传稳定性。末端 DNA 的复制，由端粒酶(telomerase)来负责。端粒酶是一种 RNP 分子，由 RNA 和蛋白质构成，具有反转录酶的功能。其催化合成端粒 DNA 的机制是：端粒酶沿后随链以 3′-OH 为引物，合成端粒 DNA 重复序列。然后，新合成的端粒 DNA 重复序列折回成袢，再以 T2G4 为模板合成 DNA，以保证 DNA 的完全复制(图 12－29)。(详细过程参见第十四章)

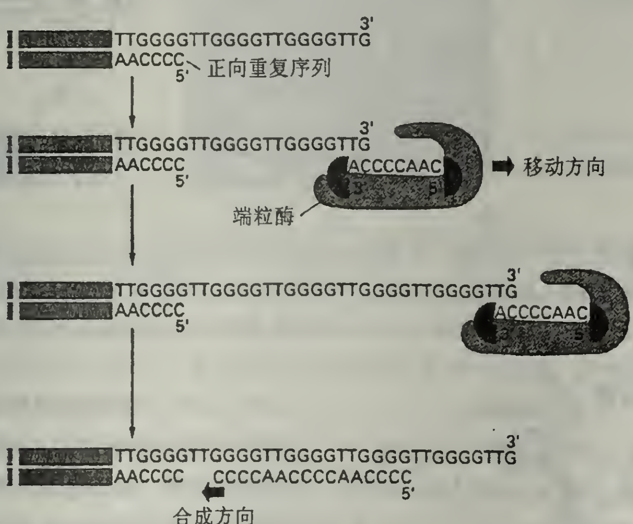


图 12－29　四膜虫染色体中端粒完整复制的机制图解

酵母人工染色体 (yeast artificial chromasome, YAC) 就是由上述三种 DNA 序列组装成的载体，能克隆大分子 DNA(图 12－30)。

4. 特殊染色体

某些细胞在发育的某个阶段会出现一些体积很大的特殊染色体，常见的有多线染色体 (polytene chromosome) 和灯刷染色体 lampbrush chromosome)两类。

(1) 多线染色体：一般间期核中的 DNA 复制之后不久细胞即进行分裂，DNA 含量减半，恢复到复制前的含量。因

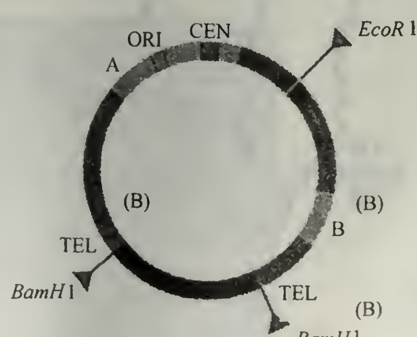


图 12－30　酵母人工染色体(YAC)的结构图解
CEN，着丝粒 DNA 序列；TEL，端粒 DNA 序列；ORI，自主复制 DNA 序列

而各细胞代的每染色体的 DNA 含量可保持恒定。可是双翅目昆虫(如果蝇)幼虫的唾腺细胞、肠细胞、气管细胞、马尔比基小管细胞以及植物的胚珠细胞中却出现了另外的情形。这类细胞永远处于间期阶段,不再进行有丝分裂。在幼虫发育期间,染色体要进行 4～15 次复制,复制后新、老链不分离,因而一个染色体中就有 24～215 条 DNA 分子,这种现象称为核内有丝分裂(endomitosis)(图 12－31)。果蝇幼虫唾腺细胞核中的 DNA 含量就比一般细胞多了 1000 倍。这种只复制不分离的巨大染色体就称为多线染

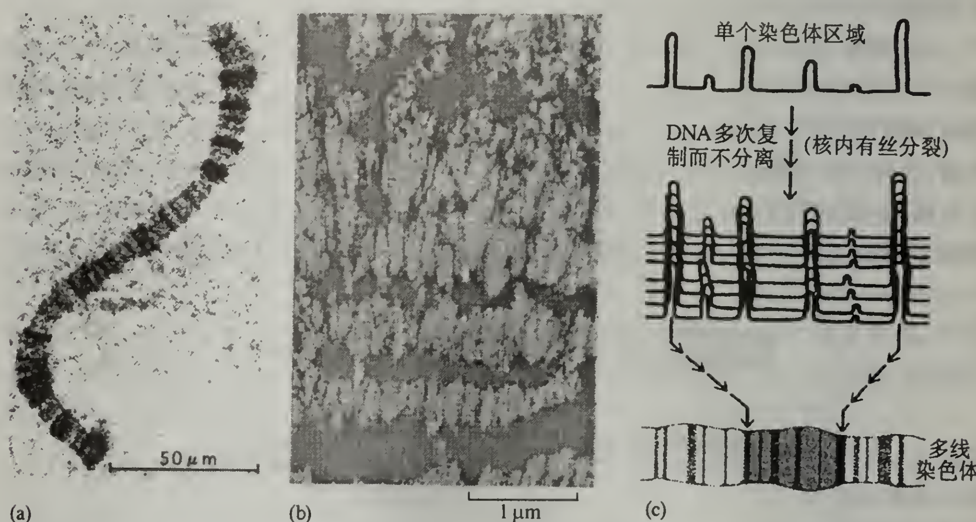


图 12－31　果蝇的一段染色体电镜照片及多线染色体的形成机制图解

(a)果蝇多线染色体的放射自显影照片,示基因活性区位于带上;(b)多线染色体电镜图像,示每条染色体中的染色质纤维的排列方式;(c)多线染色体形成机制示意图,多线染色体来自核内有丝分裂



图 12－32　一个果蝇唾液腺细胞中的多线染色体图

色体。它比一般染色体粗得多。由于多线染色体中平行排列的染色质纤维各段凝缩紧密程度不同,因而呈现出横行带纹现象,有的带可含多个基因(图 12－32)。

多线染色体的带可保持静息状态,但有的带也可发生蓬松现象,出现蓬突(puff)。首先描述这种现象的是意大利学者 Balbiani(1881),有一些大的蓬突则命名为巴尔比安尼氏环(巴氏环)(Balbiani ring)(图 12－33)。多线染色体上出现的蓬突是基因活动区,是正在进行转录的表现(见图 13－14)。转录的产物绝大部分是 mRNA。多线染色体的某些蓬突中也能掺入 ^{3}H-胸腺嘧啶核苷,说明这些区段进行 DNA 外复制,是一种基因扩增现象。

多线染色体在原生生物和有花植物中亦有所发现。有的植物,如百合(*Allium urinum*)有一些特化细胞,如合点细胞和反足细胞等也含有巨大的多线染色体。植物的多线染色体有两点与动物的不同:①无明显的分带现象;②染色单体间结合得不紧密,各

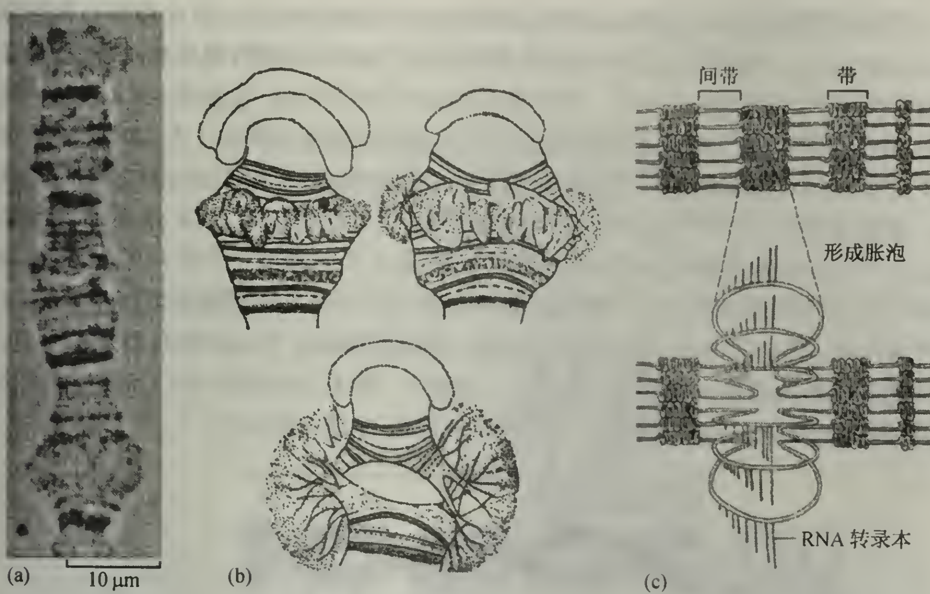


图 12－33　多线染色体中的蓬突现象，示巴氏环
(a)多线染色体及其蓬突的电镜照片；(b)处于不同表达阶段的巴氏环；(c)巴氏环形成机制图解

条单体清晰可见。

在多线染色体上有一些带和间带交替排列，带为平行排列的染色质纤维彼此对应包装而成。85%的DNA分布在带上，15%的DNA分布在间带上；带的数目、形态、大小和位置非常稳定，形成多线染色体的带谱。

在发育的一定阶段，某些带出现蓬松而形成胀泡(蓬突)(puff)，此为基因活动区，是基因正在进行转录的表现。

(2) 灯刷染色体：动物卵母细胞在双线期中普遍发生染色体伸出大量侧环的现象。这时，染色体外形类似于灯刷(或试管刷)，故取名为灯刷染色体(lampbrush chromosome)。在有些动物的精母细胞和有些植物如单细胞伞藻与玉米等的核中亦有灯刷染色体的出现。两栖类动物的灯刷染色体十分明显，而且很长，爪蟾的可长达5900μm，比果蝇的多线染色体长了3倍。灯刷染色体出现于减数分裂的双线期，为二价体，两条同源染色体通过几处交叉而相连(图 12－34)。

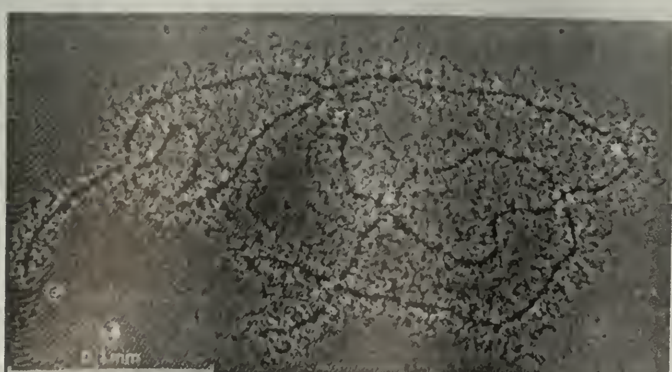


图 12－34　蝾螈(*Triturus viridescens*)双线期灯刷染色体的相差显微镜图像
一对同源染色体通过交叉相互连接在一起(自 Gall　J. G. 1981)

灯刷染色体的每一同源染色体轴表现为由 1 行颗粒串连组成,这种颗粒称为染色粒(chromomere)。染色粒是染色单体紧密折叠的区域,为不进行转录的片段,而侧环则是进行转录的区段(图 12-35)。侧环部分的 DNA 约占 DNA 总量的 5%。侧环均成对存在,染色体中的两个侧环染色单体在各个对应部位都各松展出 1 个侧环。染色体侧环在位置、大小、粗细和形态上都具有稳定的物种特征,故可根据这些特征对染色体作图。每条染色体上可伸出 5000~10 000 个侧环。侧环是由 DNA 分子外被以基质(matrix)所组成,基质的成分是 RNA 和蛋白质。每 1 个侧环是 1 个转录单位。侧环两端粗细不等,由细端逐渐向另一端增粗。侧环上伸出的不同长度核糖核蛋白丝是 DNA 轴的转录产物。转录的 DNA 为 mRNA 前体物,供卵细胞的生长和胚胎时期发育之用。由于转录活动是由侧环一端开始,向着另一端进行,而且转录出的 RNA 链与 RNA 主轴垂直,因此随着 DNA 链的不断延长而使侧环加粗,呈现为雪松形。

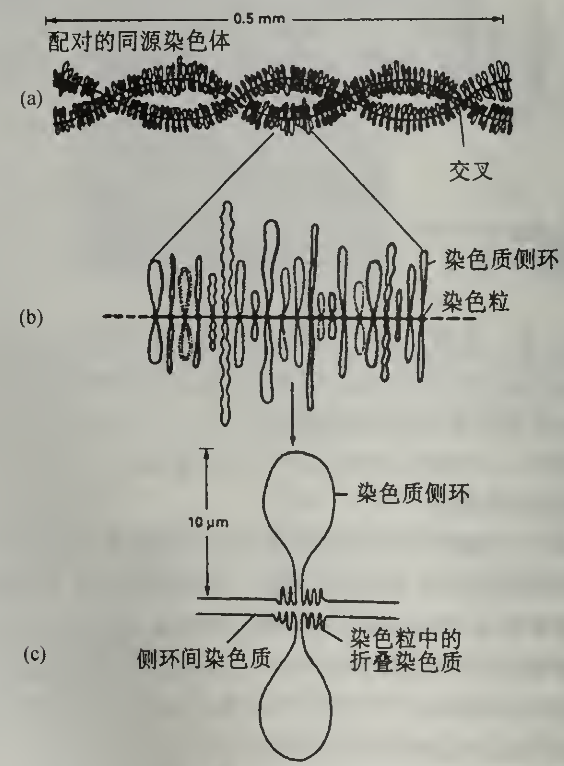


图 12-35　蝾螈卵母细胞中灯刷染色体的结构图解

(a)示一对同源染色体之间的多个交叉;(b) 放大的侧环,示染色单体在染色粒处的折叠情况;(c)为(b)图中部分侧环的放大,示核糖核蛋白细丝垂直连接到 DNA 轴上(自 Alberts 1994)

(三)大肠杆菌染色体

原核细胞虽无核膜,但其类核区却占有一定的空间。大肠杆菌的类核是由三种成分组成,DNA 占 60%~70%,RNA 占 30%,蛋白质占 1%,类核区的直径约为 1μm,而 DNA 分子的长度为 1300μm,因而 DNA 分子只有经过褶叠压缩才能容纳在类核空间中。实际上,在分离出的类核中,DNA 分子环确以高度紧缩的状态存在。1973 年,Pettijohn 和 Hecht 提出了大肠杆菌 DNA 分子褶叠一螺旋结构模型,来说明细菌染色体的空间构型。环形 DNA 分子形成了许多袢状褶叠,由结合上的 RNA 保持褶叠稳定。每

一褶叠是一个独立区,其 DNA 双螺旋又卷缩成超螺旋。经过这样的二级变化,DNA 分子便压缩了 1000 余倍(图 12-36)。

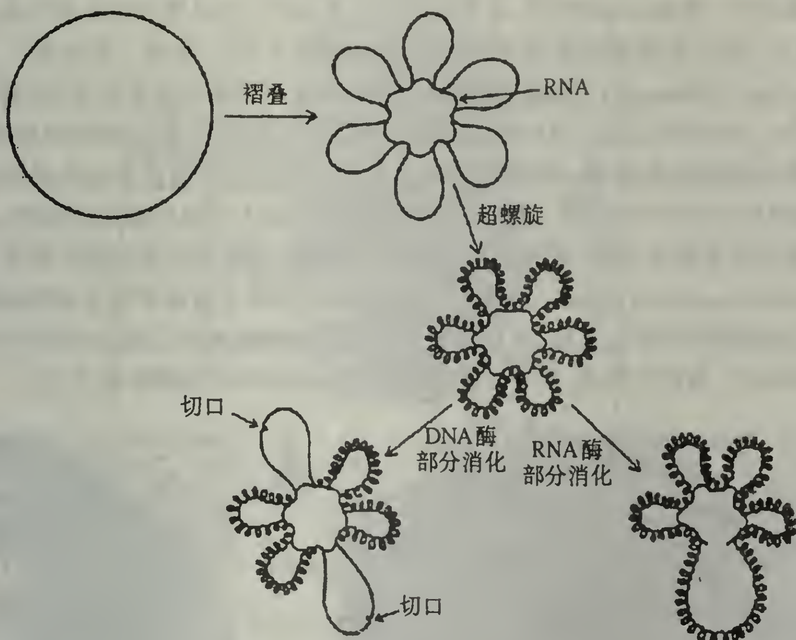


图 12-36 大肠杆菌染色体的紧缩结构模型

RNA 结合到 DNA 分子上,DNA 的双螺旋环形成褶叠。用 RNA 酶和 DNA 酶分别进行消化时,染色体可产生不同的变化(自 Pettijohn et al. 1973)

大肠杆菌 DNA 分子的高度紧缩状态与结合蛋白和 RNA 有关。类核经 RNA 酶或蛋白质去稳剂处理,则 DNA 丝即以不同程度展开。如果把细胞在有 RNA 合成抑制剂的环境中培养几分钟,则分离出的类核 DNA 分子便会自然松展。如果用 DNA 酶进行部分消化,则会使 DNA 双螺旋出现切口,超螺旋松展,但褶叠仍然保持。

在大肠杆菌中有好几种 DNA 结合蛋白,如 H、HU、P 等蛋白质。这些蛋白质的碱性氨基酸含量都很高,为碱性蛋白质。在氨基酸组成方面,有的与真核生物染色体的 DNA 结合蛋白类似。例如,H 和 HU 蛋白分别类似于 H_2A 和 H_2B 组蛋白,而 P 蛋白则类似于动物精子中的鱼精蛋白。可是,这些蛋白质在维持细菌 DNA 超螺旋中的作用机制尚不清楚。

三、核仁

真核细胞的间期核有 1 个或几个浓密的球形小体,称为核仁 (nucleolus)。因为它较周围的核液 (nucleoplasm) 浓密得多,故在光学显微镜下清晰可见。核仁的形状、大小、数目,因生物种类和生理状态不同而有变动,一般生理活动旺盛的细胞,核仁大;不太活动的细胞,核仁就小。

核仁总是位于染色体组中一定染色体的特定部位,这种染色体称为核仁组织染色体(nucleolar organizing chromosome)。在电镜下可以看出,核仁无膜包围,它由四部分组成,即颗粒区 (granular area)、原纤维区 (fibrilar area)、核仁染色质和基质。其中,颗粒区和原纤维区最明显 (图 12-37)。颗粒区往往位于核仁的边缘部分, 是由直径约 15~

20nm 的颗粒（略小于核糖体）所组成。颗粒系处于不同成熟程度的核糖体亚单位前体。原纤维区是由直径约为 5 ~ 10nm 的原纤维所组成。用核糖核酸酶和蛋白质水解酶处理超薄切片，即显示出颗粒区和原纤维区显著减小，这说明此两种成分的性质为核糖核蛋白。核仁染色质包括两部分，一部分围绕在核仁周围，称为核仁内染色质(intranucleolar chromotin)。用适当的方法处理标本，可使原纤维分散开，显露出核仁内染色质为一环状染色质丝。用核糖核酸酶和蛋白质水解酶处理，这段染色质显著变细，如用脱氧核糖核酸酶处理，则可把染色质丝环切断，证明这段染色质是含有核糖体DNA（rDNA）的 DNP 复合物。rDNA 含有为核糖体 RNA(rRNA)编码的基因，核仁组织染色体中含有核糖体 RNA 基因，具有组织形成核仁的能力的染色质区称为核仁组织区(nucleolar organizing region, NOR)。核仁的前三种成分是悬浮在无结构的蛋白质性溶液中，此溶液即为核仁基质。核仁 4 种成分的比例随细胞的生理活动而有所变化，细胞代谢旺盛时，颗粒区明显，反映出正在活跃地合成核糖体亚单位的状态。

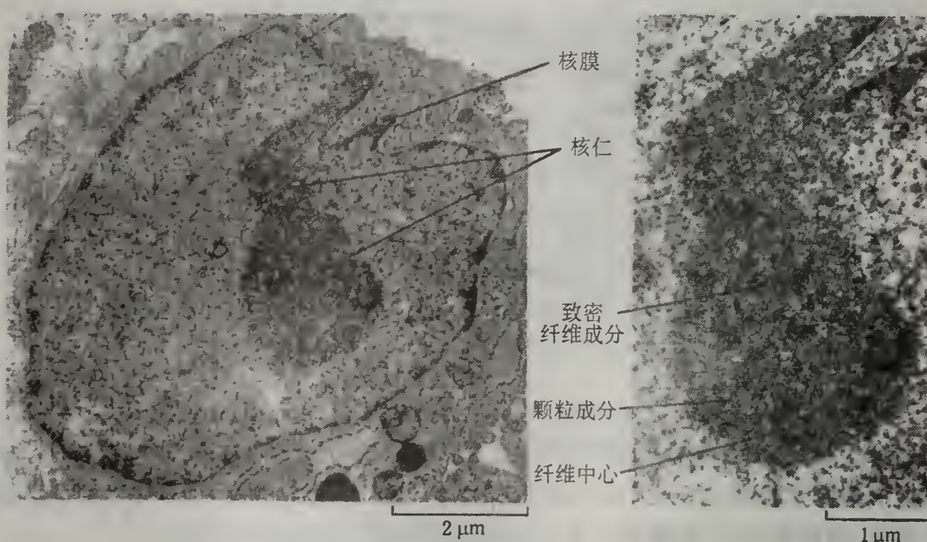


图 12 - 37　人成纤维细胞中的核仁电镜图，示三个不同的特征性结构区（自 Jordan, E. G. 1982）

核仁的功能是转录 rRNA 和组装核糖体亚单位(图 12 - 38)。核仁的原纤维区的纤维状物质是由新合成的 rRNA 结合上蛋白质所组成的核糖核蛋白(RNP)。RNP 进一步装配成核仁颗粒，即成熟程度不同的核糖体亚单位前体。用 ^{3}H- 尿嘧啶核苷做放射自显影表明，放射性首先出现在原纤维区，然后进入颗粒区。这说明核仁功能活动的顺序是核仁 DNA→原纤维区→颗粒区。装配成的核糖体颗粒经核孔进入细胞质。

当 rRNA 基因转录活动活跃时，围绕着由核仁组织区伸展开的 rDNA 环形成了核仁。有丝分裂时，染色质凝缩为染色体，前期末 rRNA 基因暂停转录，含有 rRNA 基因的 DNA 逐渐凝缩，缩回到染色体中。在染色质变为染色体的过程中该区最后凝缩，因而该部位较细，于是在中期染色体组中，核仁组织染色体短臂近游离端形成了一个次级缢痕，即核仁组织区所存在的部位。具有核仁组织区的染色体即核仁组织染色体。在有丝分裂之后，每一条核仁组织染色体的 rDNA 又组织成小的核仁，这些小核仁很快融合成大的核仁(图 12 - 39)。

每一物种均有一定的核仁组织染色体，例如人类的为 D 组的 13、14、15 和 G 组的

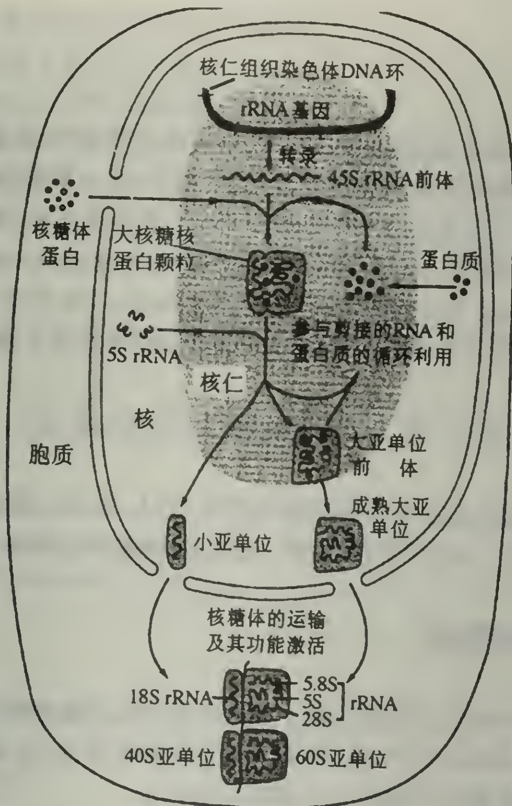


图 12 - 38　核仁在核糖体的合成与组装中的功能图解（自 Alberts　1994）

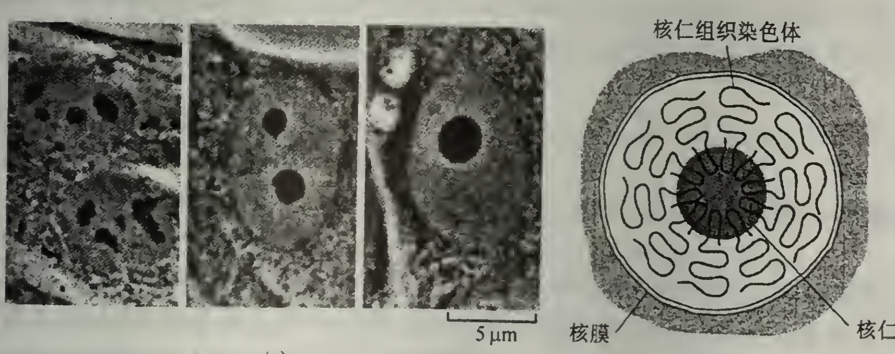


图 12 - 39　在有丝分裂后期的核仁逐渐形成融合成大的核仁和间期核仁结构模式图
(a)培养中的人成纤维细胞核分裂后小的核仁，彼此融合后形成
成熟的核仁的光镜图；(b)示人间期细胞核仁结构的推想模式图

21 和 22 对染色体，小鼠的为 12、16 和18 对染色体。一个物种的核仁数与核仁组织染色体的数目不一定一致，核仁往往相互融合在一起，如人的为 1 个核仁，爪蟾为 2 个核仁，摇蚊(*Chironomus*)则为多个核仁。人的间期染色体，含有 rRNA 基因的染色质袢共同参与组成核仁，例如人有 10 条染色体的 rDNA 染色质袢构成核仁(图 12 - 39b)。

四、核液

间期细胞核中，在染色质和核仁周围有无定形的着色浅的液体，称为核液(nucleoplasm)。其化学组成还了解得比较少。在核液中，有一些颗粒状和细丝状物质。这些颗粒有两种，一种邻近染色质，直径40～45nm，称为染色质周颗粒(perichromatin granules)；另一种较小的颗粒，直径20～25 nm，位于染色质之间。此外还可以看到有染色质周纤维(perichromatin fiber)和卷曲小体(coiled body)。经化学分析，这些颗粒和纤维状物质都是由RNA复合以蛋白质所组成。但它们的功能尚不清楚。

第二节　细胞核的化学组成

真核细胞中细胞核化学成分主要为蛋白质和DNA，还有一定的RNA，以及不超过2%的脂类(核膜的成分)，此外尚有氨基酸、核苷酸、辅酶和各种代谢产物。

一、染色质的化学组成

染色质是由核酸和蛋白质的复合物，其中含有DNA，组蛋白(鱼精子中为鱼精蛋白)，非组蛋白和少量RNA(表12-3)。在不同染色质标本中，RNA和非组蛋白的含量是不同的，可是DNA和组蛋白总是按1:1固定比例存在。

表12－3　染色质的化学组成(干重的百分数)

成　分	核　酸		蛋　白　质	
	DNA	RNA	组蛋白	非组蛋白
肝	31	5	36	28
豌豆胚	31	17.5	33	18

(一)染色质DNA

真核生物中，单根染色质纤维是一个结合有蛋白质的线性DNA双螺旋分子。因此染色质纤维是一个大分子量的核蛋白纤维。哺乳动物染色体中DNA的含量约占13%～20%，其余部分主要为组蛋白、非组蛋白以及与DNA、RNA合成有关的酶。

各种生物的DNA含量差别很大(表12-4)。原核细胞只含1个DNA分子；真核细胞则含1个或多个DNA分子。各种真核生物中一个染色体DNA分子的相对分子质量也差别很大。果蝇一个大染色体DNA的相对分子质量为4×10^{10}，酵母的则为8×10^{8}，相差上百倍。DNA双螺旋每1μm为2×10^{6}，故果蝇DNA分子的长度为20 000μm，大肠肝菌的为1 300μm。

虽然染色体DNA的相对分子质量很大，可达几百万，但在DNA链中有基因活性的区段只占10%左右。

DNA是由四种脱氧核糖核苷酸组成的，每种核苷酸含有一种碱基，分别为：腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)。此外尚有少量的其他碱基，如5-甲基胞

嘧啶(MC),这种碱基在麦胚 DNA 中特别丰富。

DNA 在碱基组成上具有以下特点:

(1) 嘌呤碱基的总和等于嘧啶碱基的总和。

(2) 腺嘌呤和胞嘧啶的总和等于鸟嘌呤和胸腺嘧啶的总和。即 A + C = G + T。

(3) 腺嘌呤和胸腺嘧啶相等(A = T);鸟嘌呤与胞嘧啶相等(G = C)。

表 12-4 各种生物的 DNA 含量

生　　物	单倍体 DNA 含量 (10^{-12}g)
病毒	
疱疹病毒	0.00011
λ 噬菌体	0.000055
T2 噬菌体	0.0002
原核生物(细菌)	
大肠杆菌(*Escherichia coli*)	0.0047
金黄葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)	0.007
鼠伤寒沙门氏菌(*Salmmella typhimuium*)	0.013
真核生物	
酵母	0.018
玉米	7.5
果蝇(*Drosophila melanogaster*)	0.18
蛙(*Rana pipiens*)	6.5
小鼠(*Mus musculus*)	2.5
人	3.2

这三点反映了双螺旋结构的基本特征,DNA 分子可分为 A-T 丰富型和 G-C 丰富型两大类, DNA 碱基组成比例上具有物种特异性, 即每一生物种都有自己固定的碱基比例。但对于一个物种来说,不同器官、不同组织中的 DNA,其碱基组成比例极为相似。

(二)组蛋白和非组蛋白

组蛋白是碱性蛋白质,无种和组织的特异性。组蛋白中的碱性氨基酸在细胞正常 pH 下带正电荷,它们可中和 DNA 分子中磷酸根的负电荷,从而消除了 DNA 分子中的静电斥力,使 DNA 可以紧密地折叠起来。而非组蛋白中的酸性氨基酸如谷氨酸和天冬氨酸的数量超过了碱性氨基酸,故非组蛋白是酸性蛋白质, M_r 约为 10 ~ 20kDa。非组蛋白的含量变动较大,有种和组织的特异性。

非组蛋白的种类繁多, 在 HeLa 细胞中就有 450 多种, 这类蛋白质从酸性到微碱性(等电点 pH4 ~ 9)都有,与组蛋白相比,为酸性蛋白质。组蛋白的等电点 pH> 10,带有正电荷,呈较强的碱性,故为碱性蛋白质。组蛋白的种类不多,总共只有 6 种,即为 H_1、H_2A、H_2B、H_3、H_4 和 H_5,其中 H_5 只存在于鱼类、两栖类和鸟类的红细胞中(表 12-5)。组蛋白很少有种间差异,H_1 组蛋白 M_r 最大,为 21kDa,含赖氨酸丰富,其氨基酸顺序有物种和组织特异性。H_2A、H_2B 的 M_r 分别为 14.5kDa 和 13.7kDa,含赖氨酸较丰富,氨基酸顺序相当保守。H_3(M_r15kDa)和 H_4(M_r11kDa)含精氨酸丰富,其氨基酸顺序在进化上极为保守,很少有组织和种间差异。特别是 H_4,最为保守,其氨基酸顺序在大鼠、猪和牛中竟完全一样, 与豌豆相比在 102 个氨基酸中也仅有 2 个氨基酸之差。在

某些物种的精子中,构成染色质的蛋白质为鱼精蛋白(protamine),而不是组蛋白。

表 12-5　组蛋白的种类、组成及其特性

名　称	分子量	基本氨基酸	Arg 含量	Lys 含量	Lys/Arg 比值**	种间保守性
H_1	21 (kDa)	Lys 丰富	2.5%	26.38%	20	保守性很低
H_2A	14.5 (kDa)	Lys 丰富	6.7%	16%~17%	1.25	相当保守
H_2B	13.7 (kDa)	Lys 丰富	11.5%	10.5%	2.5	相当保守
H_3	15.3 (kDa)	Arg 丰富	13.4%	8.8%	0.72	高度保守
H_4	11.3 (kDa)	Arg 丰富	14.1%	9.7%	0.79	最为保守
H_5*		Lys 丰富				

*　H_5 多存在于鱼类、两栖类和鸟类的红细胞中;

**　小牛胸腺中组蛋白中赖氨酸与精氨酸的比值 (Lys: 赖氨酸; Arg: 精氨酸)

DNA 同组蛋白的含量比例比较恒定,重量比总是 1:1,组蛋白很容易和 DNA 结合在一起,结合了组蛋白的 DNA,就不能表达遗传信息,所以组蛋白有抑制基因表达的作用,而且结合量愈增加,DNA 的模板性抑制愈深。反之,用胰酶处理细胞核,组蛋白显著减少,则转录活性增强。因此推想在转录时,组蛋白和 DNA 的结构关系会发生改变。

非组蛋白对 DNA 的基因表达有调控作用,它的作用方式恰和组蛋白相反,凡是结合有非组蛋白的 DNA 片段,其信息即发生表达。由此可见,非组蛋白对 DNA 的基因表达有专一性的控制作用。Gilmour 和 Paul(1970)利用染色质重组和竞争杂交方法来研究 DNA 表达的特异性与非组蛋白的关系。他们把骨髓网织红细胞和胸腺混合的 DNA、组蛋白重建染色质。他们发现加入骨髓网织红细胞非组蛋白,染色质转录的 RNA 与天然骨髓网织红细胞染色质转录的球蛋白 mRNA 相同。反之,加入胸腺非组蛋白,重组染色质转录的 RNA 与天然的胸腺染色质转录的 RNA 相同。又如血红蛋白 mRNA 只能由成红细胞转录,脑细胞则不能产生血红蛋白 mRNA 。当在体外把脑细胞染色质解组后,用成红细胞的非组蛋白与之重建,重建后的脑细胞染色质即能转录血红蛋白 mRNA 。可是如果脑细胞的非组蛋白与之重建,仍然不能产生血红蛋白 mRNA 。这些实验不仅说明非组蛋白有调节基因表达的作用,而且也说明它有明显的组织特异性。

二、重复 DNA 顺序

原核生物的 DNA 分子要比真核生物的 DNA 分子小得多,且核苷酸顺序单一。原核生物 DNA 没有重复顺序(repetitive DNA sequence)。但真核生物的 DNA,某些核苷酸顺序出现了重复现象。有的核苷酸顺序可重复出现多次。重复核苷酸顺序在 DNA 整个分子中所占的比例因物种的不同而异(表 12-6)。在人的 DNA 中,重复了 20 次以上的核苷酸顺序占了 30%。重复 DNA 单元可分散存在,也可集中存在。

真核细胞的 DNA,根据其重复单元的重复次数可分为两类:一是高度重复的 DNA (highly repetitive DNA),重复次数可达百万次,小鼠的随体 DNA 甚至可达 10^7;另一类是中等重复的 DNA(middle repetitive DNA),重复次数由几十次到几千次。那些非重复的单一序列 DNA,其顺序在基因组中只出现一次。3 类 DNA 顺序具有不同的特性和功能(表 12-7)。

表 12－6　各种生物 DNA 重复顺序的百分比(%)(自 Brewer et al.　1983)

物种	单一	5～10	10～10^2	10^2～10^3	10^3～10^4	10^4～10^5	10^5～10^6
细菌	99.7	0.3					
海胆	62		2.3		9	3	
蜗牛	40		20		25		
蟾蜍	55		10		20		
小鼠	60				15	10	10
小牛	55					38	3
人	70			3		10	8

表 12－7　真核生物三类 DNA 顺序的特性（自 Elseth, G. D. and Baumgardner　1984）

DNA 类别	在基因组中的百分比(%)	R 值*	基本特性	在基因组中的部位和功能
高度重复	0～50	＞10^5	每一重复单元为 5～300bp，碱基组成不同于 DNA 的其他成分。可分离为随体 DNA	着丝粒处的 DNA 序列，无编码功能
中等重复	10～50	10～10^5	每一重复单元为 10^2～10^7bp，可再分为 R 值不同的几种亚类	(1)基因内和基因间的间隔顺序；(2)为 rRNA、tRNA、组蛋白和抗体编码的重复基因
单一序列	10～80	1	一个单元＞10^6bp	大多数结构基因.

* R 值：指在整个基因组中具有不同长度和重复程度的若干重复顺序的平均重复率

(一)高度重复顺序

高度重复的 DNA，有随体 DNA(satellite DNA)。随体 DNA 的碱基组成不同于主要的 DNA 部分，用等密度 CsCl 梯度离心法(isopycnic CsCl gradient centrifugation)做超速离心时，在 DNA 主沉淀带附近还有 DNA 小沉淀带。主沉降带的浮力密度为基因组的 G-C 含量平均值，而小沉降带在中性 CsCl 中，其浮力密度(buoyant density)比主带或高或低，这部分 DNA 为随体 DNA。例如，蝾螈大部分 DNA 的浮力密度为 1.705，但在浮力密度稍高部位(1.728)有一个峰值，其量约占 DNA 的 2%，此小带即为随体 DNA。由于此随体 DNA 的 G-C 碱基对的含量高(68%)，故有较高的浮力密度（图 12－40)。随体 DNA 位于着丝粒区。随体 DNA 重复顺序的大小差别很大，可从十几个核苷酸到三四百个核苷酸。随体 DNA 不转录 RNA，其功能还不清楚．在小鼠的 20 对染色体着丝粒区均有随体 DNA。



图 12－40　细胞 DNA 的 CsCl 密度梯度离心
DNA 主峰的浮力密度为 1.705，小的随体 DNA 的峰值为 1.728

DNA 的浮力密度要受许多因素的影响，如铯盐的性质、重金属、pH 值和温度等。在条件恒定的情况下（温度 25℃，CsCl，pH 为中性），则 DNA 的浮力密度决定于 G-C 的含量，G-C 碱基对高的 DNA，浮力密度大。1962 年 C. Schildurant 等人总结出 1 个浮力密度

同 G-C 碱基对含量的关系的推算公式：

$$\rho = 1.660 + 0.00098(\% \text{G-C})\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$$

根据公式，测出各种材料的 G-C 对含量和浮力密度。高等植物绝大多数核 DNA 的浮力密度一般在 1.69～1.71g · cm^{-3} 之间。

(二)中等重复顺序

某些基因是以多拷贝的形式存在，但重复次数较少。例如，为核糖体 RNA(rRNA)编码的 rDNA 序列，5S DNA 和组蛋白基因均为中等程度重复 DNA。爪蟾中就有 450 个核糖体 RNA 基因和 2.3×10^5 个 5S RNA 基因。真核生物有 4 种 rRNA，即 28S、18S、5.8S 和 5S RNA，其中 28S、18S、5.8S RNA 的基因位于核仁组织区中。转录时，rDNA 先指导合成前体 rRNA(pre rRNA)。前体 rRNA 的大小，因物种不同而有差别，昆虫的为 37S，两栖类为 40S，哺乳类为 45S。45S 前体 rRNA 在核中被处理成 18S、28S 和 5.8S RNA(图 12－41)。非洲爪蟾核仁中的 40S rRNA 可重复 450 次。重复单位之间有不转录间隔区。间隔区的功能还不清楚。为 5S rRNA 编码的基因均位于染色体长臂的端部，串联成群，基因间亦有间隔区。在非洲爪蟾中，5S rRNA 的 2 万余个拷贝分布在不同的染色体上。

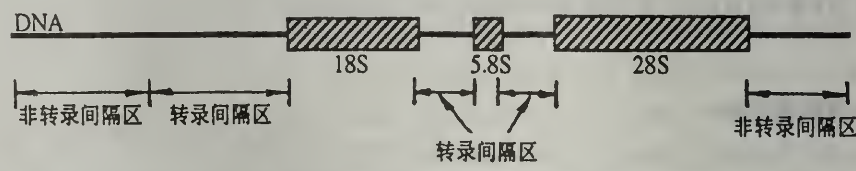


图 12－41　核糖体 RNA 基因的重复单元示意图

重复单元间存在有非转录间隔区

组蛋白基因亦是研究得比较清楚的中等重复基因，5 种组蛋白基因首尾相接连成了基因群单元，单元中基因间有间隔区(图 12－42)，间隔区的 A-T 含量较高。5 种组蛋

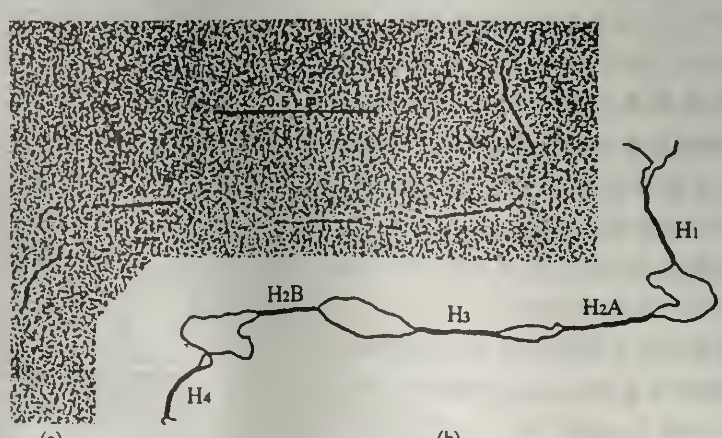


图 12－42　含有 5 种组蛋白基因的 DNA 片段(一个单元)变性后的电镜图像

A-T 丰富区在较低温度下即发生变性，DNA 链解离，未解离的部分为组蛋白的基因编码区。

(a)电镜图像；(b)示意图

白基因在单元中的排列顺序为 5′ – H_4 – H_2B – H_3 – H_2A – H_1 – 3′。海胆的组蛋白基因单元的长度约为 6000 个碱基对。5 种基因相邻排列有利于基因表达的相互配合和调节。组蛋白基因一般集中在几个染色体位点上，而在果蝇中，则位于 1 条染色体带中。5 种组蛋白基因的重复次数各物种不一样，海胆的为 400 次，人的则为 10 ~ 20 次。

第三节　核骨架

在 20 世纪 70 年代，R. Berezney 和 D. S. Coffey 从大鼠肝细胞核中分离出一种由非染色质蛋白纤维组成的网架，称之为核基质（nuclear matrix），是最早对核骨架的描述。核骨架是由 3 ~ 5nm 网络纤维和直径为 8 ~ 10nm 的颗粒状物质组成的，形态不规则。分离出的细胞核经核酸酶消化、高浓度的盐缓冲液（2mol/L NaCl）和非离子洗涤剂（Triton X – 100 或 NP40）等步骤处理后，可得到一残余结构，此结构的外形和大小与核基本一致，说明核中确存在着一种网架状的核基质结构，有人又称其为核骨架（nuclear skeleton）（图 12-43）。关于核骨架和核基质的概念，到目前为止，还没有一个统一的认识。从狭义上讲，核骨架是指核内的一个纤维蛋白性质的网架结构体系，即核基质，指除核被膜、核纤层 – 核孔复合体体系、染色体骨架与核仁以外的网架结构体系。从广义上讲，核骨架包括核基质、核纤层 – 核孔复合体体系、残存的核仁和染色体骨架。核骨架与细胞质骨架在结构上具有一定的联系，但又是一独立的网架结构体系。

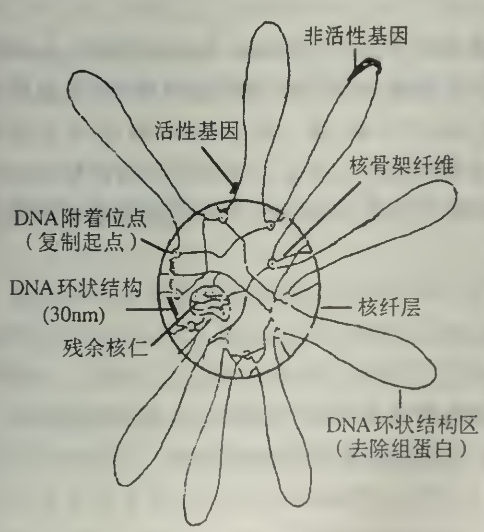




图 12 – 43　核骨架的电镜图像及其结构模式图

(a)核骨架结构的模式图（自 Ward and Coffey　1991）;(b) 核骨架中核心纤维的电镜照片，
C. 细胞质;L. 核纤层;Nu. 核仁(自何大澄等　1990)

在此，主要从广义上的核骨架概念来介绍其形态结构和功能。

一、核基质

(一)形态结构和化学组成

1991 年，Coffey 根据所得到的网络结构，提出了核骨架的结构模型（见图 12-43)。他认为,由纤维蛋白构成的网架结构充满了核内的整个空间,残存的核仁被包围在该纤维网架中;核纤层为由中间丝蛋白构成的纤维网架,位于内层核膜的下方,核基质的纤维网架与核纤层有着广泛的结构联系。核基质纤维粗细不一，直径为 3～30nm。可能单纤维的直径为 3～4nm,粗纤维可能是由多根单纤维组成的复合体。

核基质的化学组成随所用的细胞材料、制备方法及核酸酶的消化程度不同而有所差异。但核基质的主要化学成分为蛋白质和少量的 RNA。其中,蛋白质的含量可高达 90%,RNA 量虽少,可能对维持核基质的三维网络结构是必需的。

构成核基质的蛋白质成分非常复杂，目前已鉴定出的有四类：①核基质蛋白(nuclear matrin)D、E、F、G 和 4 等,可能是核基质上 DNA 袢环的结合蛋白;② Nuc^{2+}蛋白,酵母 *S. pombe* 的 Nuc^{2+}蛋白为 76kDa,同时存在于核基质和染色体骨架的组分中,与富含 AT 的 DNA 序列有特异的亲合性,可能在分裂期染色体的分离过程中起重要作用；③核内肌动蛋白，很可能在 mRNA 合成过程中起重要作用；④附着区结合蛋白(attachment region binding protein, ARBP)，M_r95kDa，可与富含 AT 的基质连接区(matrix-attached region, MAR)序列结合,在转录过程中可能与维持 DNA 的特定拓扑结构有关。

最近几年来,还陆续发现了一些核基质结合蛋白 (nuclear matrix-binding protein),包括 DNA 拓扑异构酶Ⅱ、DNA 聚合酶 α/引物酶、RNA 聚合酶Ⅱ、钙调蛋白、蛋白质激酶 C、RB 蛋白(抑癌基因 Rb 的编码产物)和 RNP 等,即一些与 DNA 和 RNA 代谢密切相关的酶类、细胞信号识别和细胞周期的调控因子，甚至于病毒特异的调控蛋白均能紧密地结合在核基质结构上,它们协助核基质的蛋白质组分共同来完成核基质网架结构的构建和生物学功能。

(二)生物学功能

近年来的研究表明,核基质可能在真核细胞的 DNA 复制、RNA 的转录与加工、染色体 DNA 的有序包装与染色体构建等生命活动中具有重要的作用。

1. 核基质与 DNA 复制

经过大量的研究表明，核基质是 DNA 的复制的基本位点和空间支架。DNA 袢环以其特定的核苷酸序列(MAR 序列)结合到核基质上,从而使 DNA 复制可在核基质上进行。MAR 序列富含 AT,含有 DNA 拓扑异构酶Ⅱ的作用位点,DNA 袢环通过 MAR 序列与 DNA 拓扑异构酶Ⅱ的结合而锚定到核基质上，从而可调控 DNA 的复制。实验证明,与 DNA 复制有关的酶和因子,与 DNA 袢环一起共同锚定到核基质上,形成了 DNA 复制体(DNA replisome),进行 DNA 的复制,且整个复制过程均是以复制体的形式在核

基质上进行的。

2. 核基质与 RNA 转录

核基质是 DNA 的转录位点,RNA 的合成也是在核基质上进行的。经研究发现,只有具有转录活性的基因才能结合到核基质上, 即基因只有结合到核基质上才能被转录。核基质上还有 RNA 聚合酶的结合位点。近年来发现,具有转录活性的基因两端存在有 MAR 序列,可经 DNA 拓扑异构酶Ⅱ而结合到核基质上,且 MAR 的存在可增加基因的转录活性。

3. 核基质与 RNA 的加工

核基质还可能是细胞核内前体 mRNA 的加工场所。对鸡输卵管细胞的研究表明,所有卵清蛋白和卵粘蛋白的前体 mRNA 仅存在于核基质中。有人认为,前体 mRNA 上的 polyA 片段可能就是前体 mRNA 在核基质上的附着部位。有关核基质与前体 mRNA 的加工的具体机制还有待于进一步研究。

4. 核基质与染色体 DNA 的有序包装和染色体构建

核基质还与染色体 DNA 的有序包装和染色体构建有关。

二、核纤层与核孔复合体系统

核纤层是由中间丝蛋白构成的蛋白网络结构。在哺乳类和鸟类中,核纤层由核纤层蛋白 A、B、C 构成;而在两栖类中,核纤层由核纤层蛋白 I、II、III、IV 构成。它们均为中间丝蛋白家族的成员。在结构上与核孔复合体具有密切的关系。与维持核孔的位置和核膜的形状、为染色质提供附着位点(染色质的结构支架)以及核膜的解体和重建有关。

三、染色体骨架

染色体中由非组蛋白构成的结构支架(见图 12-23)。由大约 30 种非组蛋白构成,无组蛋白。SCI 和 SCII 是染色体骨架的主要成分(占总量的 40%)。SCI 就是 DNA 拓扑异构酶 II。此外,还包括两种着丝粒蛋白(CENP-B 和 CENP)。

在功能上,染色体骨架不仅是染色体高级结构的结构骨架,而且还与 DNA 复制、RNA 转录与加工、染色体构建等密切相关。

由于它含有的 DNA 拓扑异构酶 II 同时也是核基质的组成成分,因此有人认为,核基质的某些成分可能在分裂前期能转变为染色体骨架,而在分裂后期染色体骨架可能又能转变为核基质。

提　　要

细胞核是真核细胞中最重要的细胞器。由双层膜构成的核被膜将核内物质与细胞质分开。两层膜间隔有空隙称为核周隙。外膜和糙面内质网相连,具有合成和运输蛋白

质的功能。在有的部位外膜不连续，形成直径为 80～120nm 的结构，称核孔复合体。核孔复合体在内、外口的边缘各对称排列着 8 个蛋白质颗粒，中央尚有一中央颗粒。核孔复合体是细胞核和细胞质进行物质交换的重要通道，但对通过的物质有一定的控制作用。在核被膜内层的内表面有一层蛋白质筛网结构，称为核纤层。核纤层具有维持核形和结合染色质的作用。

染色质是核中可着色的染色体物质，由脱氧核糖核蛋白组成，在间期核中呈丝状存在。染色质的基本结构形式为染色质纤维，核小体是染色质纤维的基本单元。每一核小体是由 5 种组蛋白和 200bp 的 DNA 组成，核小体的核心是由 H_2A、H_2B、H_3、H_4 4 种组蛋白各两个分子的八聚体和绕 1.8 圈的 147bpDNA 组成。当 DNA 绕到 2 圈时，用了约 165bp，并结合上了 H1 组蛋白，构成了染色质小体。核小体的直径为 10nm，由核小体连成的染色质纤维为 10nm 粗。随着离子强度的升高，核小体丝可进一步卷曲成 30nm 的螺旋管，即染色质（粗）纤维。螺旋管的每一圈由 6～8 核小体围成。

间期核中的染色质在结构和功能上并不均一，凝缩程度有所不同。保持高度凝缩状态的染色质称为异染色质，处于松展状态的称为常染色质。只有常染色质能进行转录。异染色质又分为两种，始终处于凝缩状态的称为恒定型染色质，如着丝粒区。在一定生理条件下或一定发育阶段松展开进行转录的异染色质则称为兼性异染色质，如哺乳动物雌性个体中两个 X 染色体之一即为兼性异染色质，在胚胎早期阶段此 X 染色体曾为常染色质，后来则凝缩为异染色质，特称为巴氏小体。

在有丝分裂中染色质纤维卷曲成染色体，到分裂中期时高度凝缩成有一定结构形态的中期染色体。每染色体同纺锤丝相连的区域为着丝粒区，直接和纺锤丝相连的为蛋白质性的盘状结构，称为动粒。染色体因着丝粒的位置不同而分为中间着丝粒、亚中间着丝粒、近端着丝粒和端着丝粒 4 种。

细胞核中所含的全部染色体称为染色体组。根据染色体的大小和着丝粒的位置可将染色体组排列成一定顺序，此即染色体组型（核型），每一物种各有特定的染色体组型。

在有些细胞中，会出现特殊的巨大染色体，如果蝇幼虫唾腺细胞中的多线染色体和两栖类卵母细胞双线期中的灯刷染色体。多线染色体来自核内有丝分裂，是一种基因扩增现象；而灯刷染色体则可转录出大量的 mRNA，供卵细胞生长和早期胚胎发育之用。

大肠杆菌的染色体为裸露的 DNA 分子，但也是以卷曲的形式存在。RNA 在维持这种结构形式中起一定的作用。此外，尚有几种 DNA 结合蛋白。

核仁是细胞核中存在的球形小体，由颗粒区、原纤维区、rRNA 和核仁基质 4 种成分组成。RDNA 是 rRNA 基因存在的区段，其转录产物和蛋白质结合，装配成核糖体前体。含有 rDNA 的染色质，称为核仁组织区，带有核仁组织区的染色体为核仁组织染色体。

染色质的主要成分为 DNA、组蛋白和非组蛋白。组蛋白只有 6 种，在进化上很保守，无种和组织特异性。组蛋白为碱性蛋白质，和 DNA 结合构成染色质纤维。非组蛋白种类繁多，有物种和组织的特异性，它对基因的表达有调控作用。特化细胞合成特有蛋白质，这与非组蛋白的作用有关。如骨髓网织红细胞的非组蛋白有使染色质转录血红蛋白 mRNA 的作用。

DNA 是由 A、T、G、C 四种核苷酸组成的聚合物。DNA 分子通常以两条链形成双螺

旋的形式存在，可以为右手型螺旋，也可以左手型螺旋（Z-DNA）。基因编码为核苷酸顺序。DNA 中的一定核苷酸顺序为单一顺序，即非重复顺序，绝大部分遗传信息均以单一顺序存在。重复 DNA 顺序按重复顺序多少又分为高度重复顺序和中等重复顺序，重复次数在几十次到几万次的为中等重复顺序，如 rRNA 基因的组蛋白基因。重复次数在 10^5 拷贝以上者为高度重复顺序，例如小鼠的随体 DNA 的重复顺序可达 10^7 之大。高度重复顺序的功能尚不清楚。

在核液中广泛存在着由蛋白质构成的网架结构，称为核基质。广义上，核基质包括核纤层、核孔复合体系统、染色体骨架和核骨架；狭义上核基质单指核骨架。间期核中的染色质纤维附着在核基质网架上。核基质除具有维持核形的作用外，在 DNA 复制和转录活动中还具有重要功能。

复习思考题

1. 细胞核是由哪几部分组成？说明核孔复合体的结构和功能。
2. 核纤层与细胞分裂过程中核被膜的解体及重建有什么关系？
3. 根据念珠模型阐明染色质纤维的分子结构。
4. 组蛋白和非组蛋白在染色质中的作用是什么？有何实验根据？
5. 什么叫核基质？广义的核基质包括哪些成分？各有何生物学功能？
6. 染色体应具有的关键序列有哪些？它们在染色体的结构和功能中担当着什么样的角色？

主要参考文献

陈汉源，1981. 染色体结构和基因组编．细胞生物杂志，4: 19～23

韩玉珉，1981. 核仁和核仁染色体．细胞生物学杂志，4: 5～9

施产福，1983. 核基质．生物化学与生物物理进展，62～7

汪堃仁、薛绍白、柳惠图，1998. 细胞生物学．北京：北京师范大学出版社，300～348

王宗舜，1980. 真核细胞染色质的结构．细胞生物学杂志，1: 1～6

翟中和，1995. 细胞生物学．北京：高等教育出版社．173～215

张志新，1980. 真核细胞小体研究的近况．细胞生物学杂志，3: 1～6，15

Alov, I. A. and Lyubskii, S. L., 1977. Functinal Morphology of Kinetochore. *International Review of Cytology*, Supplement 6: 59～74

Avers, G. J., 1984. Genetics. 2nd ed., WC Willard Grant Press, Boston. 123～139

Bostock, C. K. and Summer, A. T., 1978. The Eukaryoric Chromosome. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. 13～70; 109～138; 175～231

Cordes, V. C., Reidenbach, S. *et al.*, 1997. Identification of protein p270/Tpr as a constitutive component of the nuclear pore complex-attached intranuclear filaments. J. Cell Biol., 136: 515～529

Daneholt, B., 1997. A look at messenger RNP moving through the nuclear pore. Cell, 88: 585～588

Doye, V. and Hurt, E., 1997. From nucleoporins to nuclear pore complexes. Curr. Opin. Cell Biol. 9: 401～411

Gravel, S., and Larrivee, M. *et al.*, 1998. Yeast Ku as a regulator of Chromosomal DNA End Structre. Science, 280: 741～744

Kornberg, R. and Klug, A., 1981. 核小体．科学，6: 24～27

Lange, T. D., 1998. Telomeres and Senescence: Ending the Debate. Science, 279: 334～335

Ohno, M. and Fornerod, M. *et al.*, 1998. Nucleocytoplasmic Transport: The Last 200 Nanometers. Cell, 92: 327～336

细胞的信号转导与信号传递系统

从前面各章介绍的内容,我们了解了细胞的基本结构和各种结构所执行的主要生理功能。然而对多细胞生物个体来说,各个细胞不是孤立存在的,而是生物体的构成成员。生物个体的生命活动有序性是靠各个细胞成员的有序协调活动来保证的。细胞彼此间的协调活动则有赖于细胞间的信息交流。在第四章中我们曾介绍了间隙连接和胞间连丝在相邻细胞间的通讯关系。但是个体中大部分细胞并不直接相邻,细胞间的信息交流仅靠相邻细胞间的连接结构是远远不够的。多细胞生物又进化出了另一种信息交流方式,即细胞彼此间通过信息分子(signaling molecules)交流信息。信号分子多种多样,达几百种之多,包括有蛋白质、小肽、氨基酸、核苷酸、类固醇、类视黄素、脂肪酸衍生物,以及溶解的气体,如一氧化氮和一氧化碳等。能产生信号分子的细胞称为信号细胞 (signaling cells)。受到信号分子的作用发生反应的细胞称为靶细胞(target cells)。靶细胞依靠受体识别专一的细胞外信号分子,并把细胞外信号转变为细胞内信号,这一转变过程称为信号转导(signal transduction)。细胞内信号分子经连锁级联反应(cascade)进行细胞内信号传递(signaling),引起细胞发生反应。

靶细胞的受体蛋白多种多样,各具有专一性。有的受体存在于质膜上,有的则存在于细胞质溶质(cytosol)中,前者占多数。两类受体所识别的细胞外信号分子的性质有所不同,前者识别的分子是亲水性的,而后者识别的是疏水性分子。

本章将介绍细胞信号转导的机制和细胞中几种主要的信号传递途径。这些内容将有助于读者对本书后续内容的理解。

第一节 信号细胞与靶细胞

一、信号分子与信号细胞

信号细胞(signaling cells)通过外排分泌和穿膜扩散释放出信号分子。有的信号分子可对远距离的靶细胞发生作用;而有的信号分子在释放后,仍结合在信号细胞的表面上,只能影响到与之接触的细胞,甚至信号细胞本身。

信号分子按其作用的性质可分为几类:

1. *旁分泌信号*(paracrine signaling)

信号细胞分泌的信号分子扩散不太远,只能影响到周围近邻的细胞,很快被近邻细胞所获取和破坏。

2. *突触信号*(synaptic signaling)

神经末梢与另一神经元或肌肉细胞之间建立有特殊的连接,称为突触(synapses)。神经末梢分泌神经递质,作用于突触后靶细胞,传递信号。

3. 内分泌信号(endocrine signaling)

内分泌细胞分泌的信号分子称为激素(hormone),激素可远距离传递,随血流或汁液(植物)散布全身。信号分子由于被体液所高度稀释,故对靶细胞的作用浓度很低。

4. 自分泌信号(autocrine signaling)

细胞分泌的信号分子只作用于同种细胞,甚至同自身的受体结合引起反应,分泌信号分子的细胞既是信号细胞,也是靶细胞。例如,在细胞分化过程中,分化方向一旦确定,自分泌信号可加强细胞沿该方向分化的趋势。因此在同种细胞群体中,可产生彼此促进的"集团效应"(community effect)。在早期发育过程中,一种分化诱导信号(differentiation-inducing signal)可引起一群同种细胞发生反应。

二、靶细胞

靶细胞是信号分子作用的效应细胞,其反应过程有如下特征:

(一)专一识别信号

细胞按发育编程,在不同的分化阶段,分别与专一的信号分子结合。在分化过程中,有的细胞只对分化信号起反应;有的则只对增生信号发生反应;也有的只对其他功能信号发生反应。

(二)反应差异

细胞的环境中有数百种信号分子,通常是以组合的方式起作用,数百种分子可形成几百万种组合,细胞只是利用有限的几种分子来调控其行为。一个细胞对环境的反应途径可有所不同,这是由于:①根据细胞受体蛋白组检测可用的特定信号组;②细胞按细胞内的装置对接收的信息在细胞内进行不同的整合和译解。因此,一种信号分子对不同的靶细胞常有不同的效应。例如,神经递质——乙酰胆碱,可刺激骨骼肌收缩,而对心肌却可降低收缩频率和收缩力,对分泌细胞则可引起细胞分泌。

(三)靶细胞中的受体

信号传递过程的第一步是信号分子(配体)同靶细胞受体的结合,受体起靶细胞"天线"的作用。它是一类特殊的蛋白质,可同信号分子专一结合,启动靶细胞的反应。根据受体在靶细胞中的存在部位,可分为两类 :

1. 胞内受体

靶细胞中有些受体存在于细胞质基质或核中。一些疏水性信号小分子,如类固醇和甲状腺激素、类视黄素、维生素 D、皮质醇(cortisol)可直接穿越质膜脂双层进入靶细胞内部,与细胞内受体结合,激活受体。这些脂溶性信号分子(配体)的受体被激活后,

均可同配体所调节基因相邻近的专一 DNA 序列结合。皮质醇的受体原位于细胞质溶质中，只有同配体结合后才进入核与 DNA 结合。另一些信号分子的受体位于核中，甚至没结合配体时即结合在 DNA 上。不管哪种受体，结合配体后，都引起受体分子的构象发生改变而被激活，激活的受体进而激活（或抑制）基因转录。在许多情况下激活基因转录是分两步进行的：①在 30 分钟内先直接诱导少数专一基因转录，此谓初级反应(primary response)；②然后，初级反应的转录产物又激活其他基因，此谓次级反应(secondary response)。由此可见，一种简单的激素可以引起极其复杂的不同基因表达模式。

类固醇和甲状腺激素、维生素 D、类视黄素等配体所引起的靶细胞反应，因细胞而异。在不同的细胞中，即便是含有同一种细胞内受体，其调节的基因也可有所不同。这是由于，在真核生物中，要激活基因转录，需结合到基因上的基因调节蛋白不只是一种。因此，一个细胞内受体要激活一个基因表达，必须和其他一些基因调节蛋白配合成恰当的组合，这种恰当的组合具有细胞类型专一性。由此可见，上述激素要在动物一个细胞中引起一种典型反应必须具备两个先决条件：①细胞中含有激素信号的受体；②细胞含有不同于它种细胞的基因调节蛋白组合。

激素是通过激活对基因表达有调节作用的受体蛋白，影响基因转录。因此这些受体蛋白属于基因调节蛋白(gene regulatory proteins)。但是激素信号分子穿过质膜进入细胞后，大都不是直接激活基因调节蛋白，而是通过细胞内信号传递途径，发生信号传递级联反应，途径最后激活基因调节蛋白。基因调节蛋白的激活有多种类型（图 13-1），胞内受体通过结合配体而被激活的方式，只是其中的一种。其他各种将在下一章中介绍。

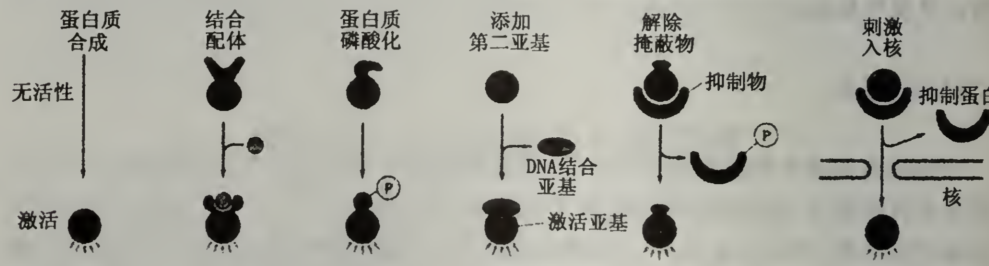


图 13－1　真核细胞中几种基因调节蛋白被激活的几种方式

(A)需要时合成，随即降解，不积累；(B)结合配体；(C)磷酸化；(D)结合 DNA 结合亚基；(E)解除磷酸化抑制蛋白，暴露出激活区；(F)除去抑制蛋白，入核

2. 表面受体蛋白

所有亲水性信号分子(包括神经递质、蛋白质激素、蛋白质生长因子)都是和靶细胞的表面受体结合发挥作用。表面受体都是跨膜整合蛋白，其配体结合部位暴露在质膜外表面。这些表面受体起信号转换器(signal transducer)的作用，同信号配体结合后，可将细胞外信号转变成一个或几个细胞内信号，从而引起靶细胞的反应。

根据传导机制的不同，细胞表面受体可分为三类：

(1) 离子通道关联受体 (ion-channel-linked receptors)：也称为递质门离子通道(transmitter-gated ion channels)。受体是多次穿膜的蛋白质，这种受体与电兴奋细胞间突触信号快速传递有关，信号传递是由少量神经递质介导。受体与配体结合后，构象发

生改变,通道瞬时打开或关闭活动,改变了质膜的离子透性,使突触后细胞发生兴奋。

(2)G 蛋白关联受体(G-protein-linked receptors):此种受体可间接调节结合在质膜上的靶蛋白的活性,靶蛋白是一种酶或是一种离子通道。其特点是,在受体蛋白与靶蛋白之间介以第三种蛋白质,即三体 GTP 结合调节蛋白(trimeric GTP-binding regulatory protein),简称为 G 蛋白(G-protein)。如果靶蛋白是一种酶,被激活后可使细胞内的一种或几种介体的浓度发生改变;如果靶蛋白是一种离子通道,则被激活后可改变质膜的离子透性。细胞内介体又可进而使细胞中的其他蛋白质的性能发生改变。

G 蛋白是一大类可与 GTP 结合的异三体蛋白,它在细胞信号传递中是一类重要中介物。A. G. Gilman 和 M. Rodbell 因发现 G 蛋白而于 1994 年获诺贝尔奖。

(3)酶关联受体(enzyme-linked receptors):受体多为一次穿膜的蛋白质,自身具有酶的性质,或者可与酶结合在一起。受体外端具有配体结合部位,内端为催化部位。这类受体大多数为蛋白质激酶或与蛋白质激酶结合在一起,它们被激活后,可使靶细胞中专一的一组蛋白质发生磷酸化。

信号转导的第一步是激活受体,有些跨膜受体为蛋白质酪氨酸激酶(protein tyrosine kinases, PTKs)。这种受体由三部分组成:细胞外配体结合区、穿膜区和细胞质区。细胞质区含有催化中心和调节序列。

图 13-2 是上述三类受体的作用原理示意图。

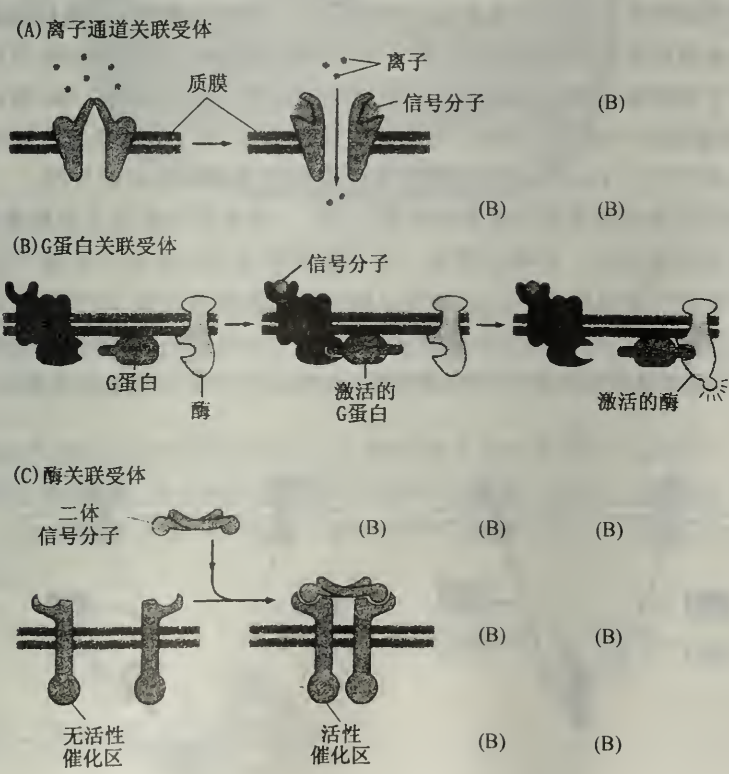


图 13-2　三类细胞表面受体作用机制示意图(自 Alberts, et al. 1998)
所有三类受体,当与细胞外信号分子结合时均发生构象变化,把细胞外信号转变为细胞内信号传递过程,在这种信号转变中细胞外信号分子不进入细胞

第二节　细胞内信号传递的基本原理

一、胞内信号传递的级联反应

细胞外信号分子引起特定靶细胞产生反应，使细胞行为发生改变。从本质上讲，细胞反应是由于细胞外信号分子影响了细胞专一基因的表达。但是，胞外信号分子并不是直接对基因活动发生作用，而是要经过一个复杂的反应过程。过程的第一步是靶细胞的受体与配体的专一结合，受体同信号分子结合后被激活，把细胞外信号转变为胞内信号，最后信号才被传递到核，影响专一基因的表达。在此过程中要涉及到一系列信号传递蛋白，像阶梯一样经历一环扣一环的连锁中继步骤。我们把细胞以这种方式传递信号的连锁称为信号传递级联反应(signaling cascade)。

组成信号传递级联反应链的蛋白质可分为两类：一类是可被蛋白质激酶磷酸化的蛋白质；另一类是在信号诱导下同 GTP 结合的蛋白质。这两类蛋白质受到激活时，获得了 1 至多个磷酸基，失活时又去磷酸基。这些蛋白质被激活，则可使磷酸化级联反应链(phosphorylation cascade)中的下游蛋白质磷酸化。

在磷酸化级联反应链中有两类蛋白质激酶：一类是丝氨酸/苏氨酸激酶，可催化蛋白质中的丝氨酸和苏氨酸磷酸化；另一类是酪氨酸激酶，催化蛋白质中的酪氨酸磷酸化。只有个别激酶不属于此两类。一个哺乳动物细胞中，约含有 100 种以上的蛋白质激酶，人类基因组中有 1% 的基因是为蛋白质激酶编码。虽然，细胞中含有带磷酸酪氨酸的蛋白质不到 0.1%，但是它在酶关联受体信号传递中起关键作用。

细胞的存活和增殖是极其复杂的细胞行为，一般是受多种信号的刺激影响，而不是单一信号的单独作用。细胞必须把一些分散的信号加以整合，才能产生特有的反应。细胞外信号可激活细胞中的多种蛋白质磷酸化级联反应链，这些级联反应链之间发生相互作用，引起了一定的生物效应(图 13-3)。由此可见，细胞内的信号传递过程极其复杂，形成了纵横交错的信号传递网络，这也是生命现象复杂性之所在。

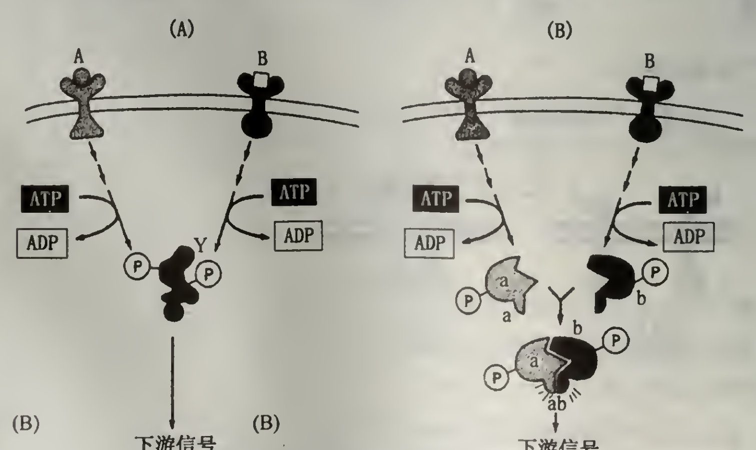


图 13-3　信号级联反应中磷酸化变化传递信号的两种类型

(A)信号分子 A 和 B 分别激活不同的磷酸化级联反应，Y 蛋白具有两个磷酸化部位，只有两个部位都磷酸化时蛋白质才被激活；(B)信号分子 A 和 B 各激活一个受体，两个激活的受体分别使 a 和 b 两种蛋白磷酸化，磷酸化的两种蛋白结合成具有活性的 ab 蛋白

二、细胞对细胞外信号反应的不同速率

细胞外信号影响细胞活动，一般可产生不同的反应速率，一种是快速反应，一种是慢速反应。两种反应所通过的反应途径不同(图 13－4)。快速反应，是通过激活的蛋白质激酶催化胞内某些蛋白质的丝氨酸或苏氨酸磷酸化，从而改变细胞行为。不同种类细胞中，磷酸化的靶蛋白组不同，产生的反应不同，例如 cAMP 对不同靶细胞会引起不同的效应。

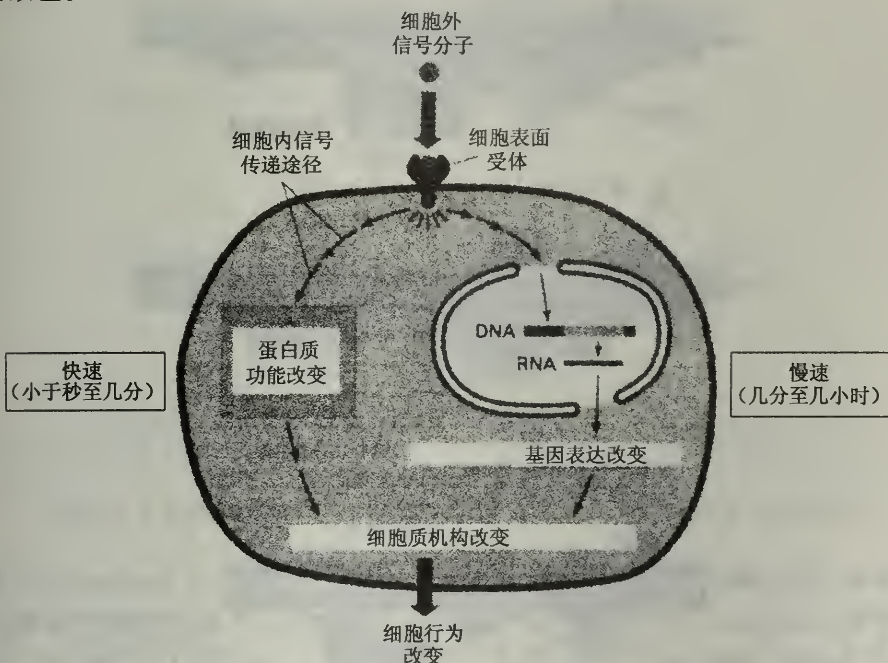


图 13－4 细胞外信号诱导细胞的快速和慢速反应

细胞的某些行为的变化，如生长和分裂，要涉及到基因表达的调节和合成新的蛋白质，因而反应速率相当慢；而细胞的运动、分泌和代谢的调节并不涉及到核机构，因而反应比较快

细胞外信号引起细胞的慢速反应，则要涉及到对基因表达的调节。在有些细胞中，A 激酶使基因调节蛋白磷酸化，激活特定基因转录。其反应一般包括如下步骤：

激素→7 次跨膜的受体→G 蛋白→腺苷酸环化酶→cAMP→A 激酶→基因调节蛋白→基因表达

第三节 G 蛋白关联受体与 G 蛋白

一、G 蛋白的结构与活性变化

在 G 蛋白关联受体反应途径中，激活的受体蛋白首先与位于质膜内表面的 G 蛋白结合，然后再将信号传递下去。G 蛋白的种类很多，在哺乳动物细胞中已发现有 20 几种。G 蛋白是由 α、β 和 γ 三个亚基组成。当细胞未受刺激时，G 蛋白受体和 G 蛋白均处于无活性状态。一旦细胞外信号分子与 G 蛋白受体结合时，受体被激活。随之 G 蛋白便与激活的受体结合，并被激活。不同类别的 G 蛋白受体可激活不同的 G 蛋

白。G 蛋白的活性受 GTP 和 GDP 的调节，结合 GTP 时处于活性状态，而结合 GDP 时则为失活状态。G 蛋白与受体结合后，α 亚基上结合的 GDP 被 GTP 置换，G 蛋白被激活。这时，α 亚基便与 βγ 复合物分离（图 13－5），二者沿质膜内表面散开，分别与各自的靶蛋白结合。

G 蛋白 α 亚基具有 GTP 酶活性，当 G 蛋白 α 亚基与其靶蛋白相互作用后，经过几秒钟便把与其结合的 GTP 水解成了 GDP。于是，α 亚基便与 βγ 复合物重新结合成无

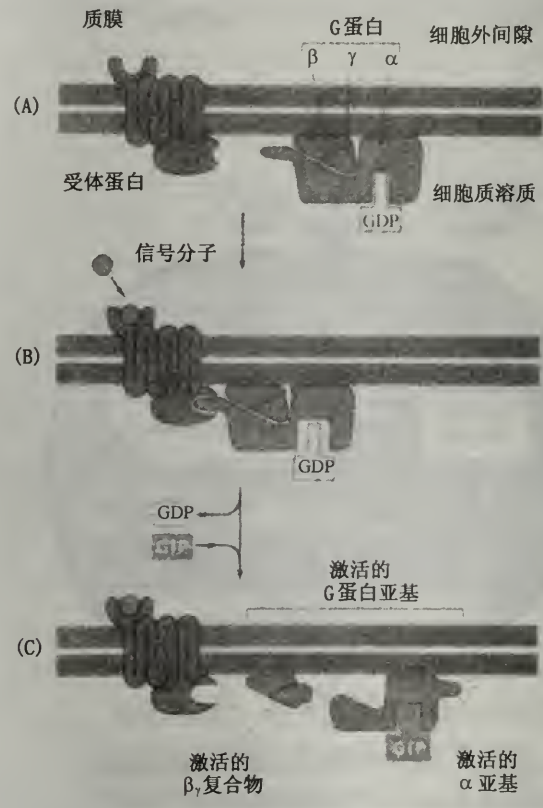


图 13－5　G 蛋白被激活时解组成两个信号蛋白

(A)未受刺激时，G 蛋白受体和 G 蛋白都处于无活性状态，彼此不接触，G 蛋白 α 亚基结合有 GDP；(B) 细胞外信号分子激活受体，引起 G 蛋白与受体结合，α 亚基结合的 GDP 被 GTP 所置换；(C)激活的 G 蛋白分解成 α 亚基和 βγ 复合物 2 个活性部分

活性的 G 蛋白，信号关闭(图 13－6)。

从前面的介绍可以看出，在信号转导中 G 蛋白的活性变化大体上可分为三个步骤：

(1)受体激活：当细胞外信号配体与受体结合时，引起受体蛋白构象改变，暴露出了与 G 蛋白结合的部位，于是 G 蛋白便与配体－受体复合物结合，导致 G 蛋白与 GDP 的结合力大大减弱。

(2)G 蛋白激活：GDP 从 α 亚基上脱离下来之后，空出的位置结合上了 GTP，G 蛋白被激活，于是 α 亚基与 βγ 复合物相解离。激活的 α 亚基暴露出了与腺苷酸环化酶相结合的部位，二者结合，后者被激活。

(3)G 蛋白复原失活：α 亚基具有 GTP 酶活性，GTP 与 α 亚基结合几秒钟之后，GTP 被水解成 GDP，α 亚基恢复原来的构象，并与腺苷酸环化酶分离，而重又和 βγ 复合物结合成 G 蛋白，腺苷酸环化酶失活。

上面所介绍 G 蛋白活化后有激活酶蛋白的能力，因而这种 G 蛋白称为刺激性

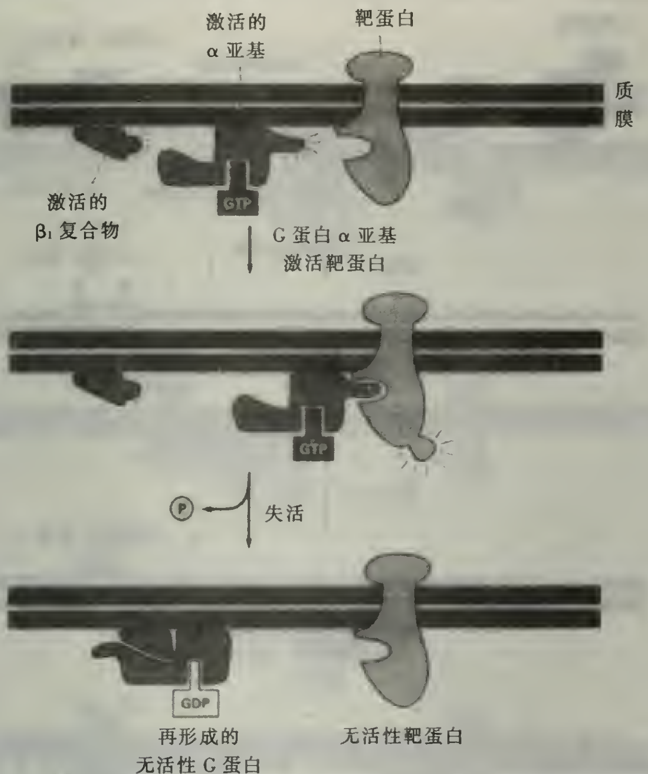


图 13－6　G 蛋白激活靶蛋白作用机制图解

G 蛋白 α 亚基与靶蛋白作用几秒钟后将 GTP 水解成 GDP，失去活性，信号自动关闭

G 蛋白（stimulatory G protein），简称为 Gs 蛋白。另一种 G 蛋白在活化后，对腺苷酸环化酶有抑制作用，这种 G 蛋白称为抑制性 G 蛋白（inhibitory G protein），简称为 G_i 蛋白。Gs 蛋白与 G_i 蛋白的 α 亚基在性质上不同，前者为 α_s 亚基，而后者为 α_i 亚基。Gs 与 G_i 可与不同的受体发生反应。例如，当肾上腺素与 β- 肾上腺能受体结合时，激活的受体可与 Gs 相互作用，从而激活腺苷酸环化酶；但是当肾上腺素与 α_2－肾上腺能受体结合时，则可激活 G_i，反而抑制腺苷酸环化酶的活性。

二、G 蛋白在信号传递中的功能

激活的 G 蛋白具有如下的功能：

（一）调节离子通道

G 蛋白可调节 K^+ 通道的开放，从而参与心率的调节。支配心搏的神经有两种，一种支配心率的提高，另一种则降低心率。后一种神经纤维释放乙酰胆碱，同心肌的 G 蛋白关联受体结合，导致 G 蛋白分解成 α 亚基和 βγ 复合物。后者具有信号传导作用，它与心肌细胞质膜上的 K^+ 通道蛋白的细胞质区结合，引起通道构象改变，使通道打开，K^+ 进入细胞，改变了心肌细胞的膜电位，心肌收缩减慢。当 α 亚基把 ATP 水解成 ADP 时，α 亚基失去活性，重新与 βγ 复合物结合成无活性的 G 蛋白，K^+ 通道重又关闭（图 13－7）。

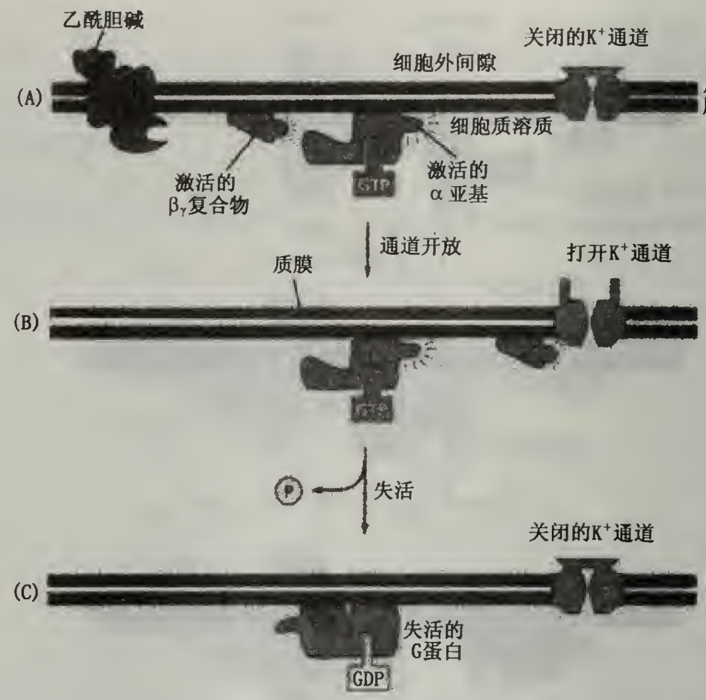


图 13-7　G 蛋白与受体结合后被激活、引起心肌质膜上的 K⁺通道开放示意图

(A) 神经递质乙酰胆碱与心肌细胞的 G 蛋白关联受体结合，导致 G 蛋白分解为激活的 βγ 复合物和激活的 α 亚基；(B) 激活的 βγ 复合物与心肌质膜上的 K⁺通道结合，打开通道；(C) 与 α 亚基结合的 GTP 水解，使 α 亚基失活，引起 α 亚基与 βγ 复合物重新结合，形成无活性的 G 蛋白

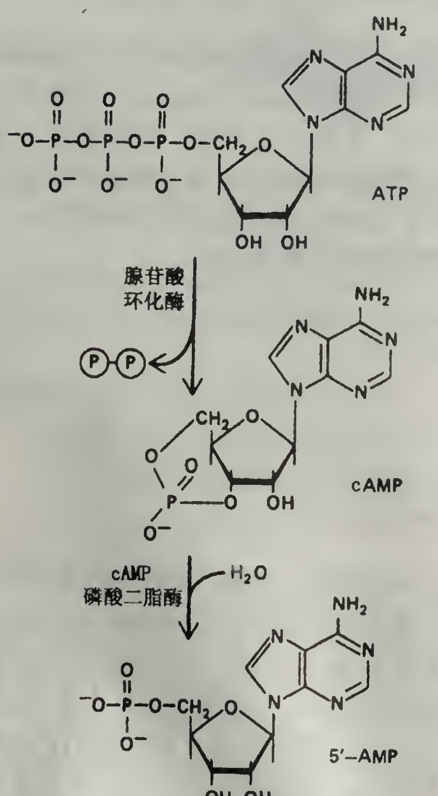


图 13-8　cAMP 的合成和降解变化示意图解

（二）激活腺苷酸环化酶

被 G 蛋白激活的最常见的膜结合的酶为腺苷酸环化酶(adenylate cyclase)，此酶可催化产生环形 AMP(cAMP) 和磷脂酶 C。cAMP 在细胞质中的浓度通常为≤10^{-7}mol/L。当细胞受到细胞外信号刺激时，cAMP 的浓度会明显升高或降低，变化的幅度可达 5 倍之多，这一反应主要是由 cAMP 的快速合成和降解引起的。质膜上的腺苷酸环化酶催化 ATP 合成 cAMP；而 cAMP 磷酸二脂酶的作用恰相反，它可将 cAMP 水解成腺苷 5′-磷酸(5′-AMP)(图 13－8)。许多细胞外信号分子主要是通过改变腺苷酸环化酶的活性来调控 cAMP 的含量水平(图 13－9)。

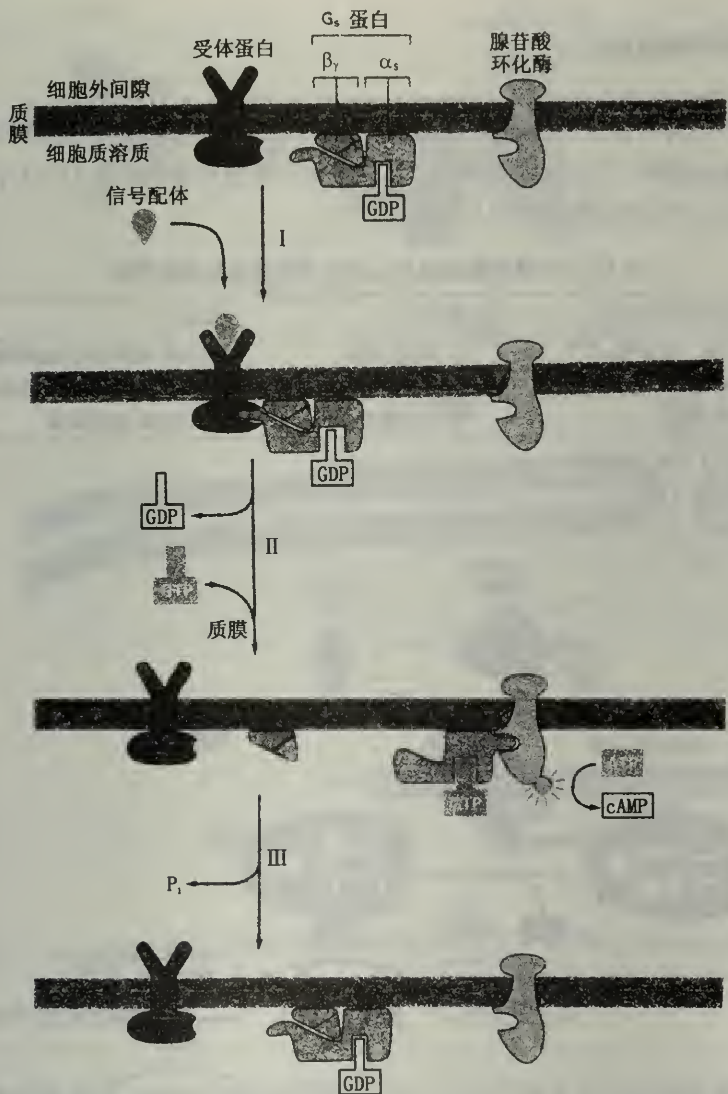


图 13－9　Gs 蛋白激活腺苷酸环化酶变化示意图

(三)激活磷脂酶 C(见下文)

三、胞内信号传递与第二信使

G 蛋白关联受体激活的级联反应中涉及到一种或几种细胞内信号传递小分子，这些小分子称为细胞内介导物(intracellular mediators)或第二信使(second messengers)。所谓第二信使是与细胞外信号分子相对而言。上面我们介绍的 G 蛋白激活腺苷酸环化酶，催化产生的 cAMP，即是一种细胞内介导物，起第二信使的作用。此外，像 Ca^{2+}和肌醇三磷酸(IP_3)等也是胞内信号传递的介导物。其中，对 cAMP 和 Ca^{2+} 的作用研究得比较多，它们是 G 蛋白关联受体信号传递途径中两种主要的胞内介导物。

(一)cAMP 信号传递途径

腺苷酸环化酶的激活,引起胞内 cAMP 浓度的提高。cAMP 浓度的提高可起不同的作用(表 13-1),例如:①引起糖原降解,应付细胞对能量的急需(图 13-10);②激活特定基因的转录,合成所需的新蛋白(图 13－11)。

表 13－1　某些激素通过 cAMP 诱导细胞反应的种类

细胞外信号分子和来源	靶组织	主要反应
肾上腺素(肾上腺髓质)	心,肌肉,脂肪	提高心率,增强收缩;糖原降解;脂肪降解
胰高血糖素(胰岛)	胰岛,脂肪	糖原降解,提高血糖;脂肪降解
ACTH(垂体前叶)	肾上腺,脂肪	分泌皮质醇;脂肪降解

注:ACTH,促肾上腺皮质激素(adrenocorticotropic hormone)

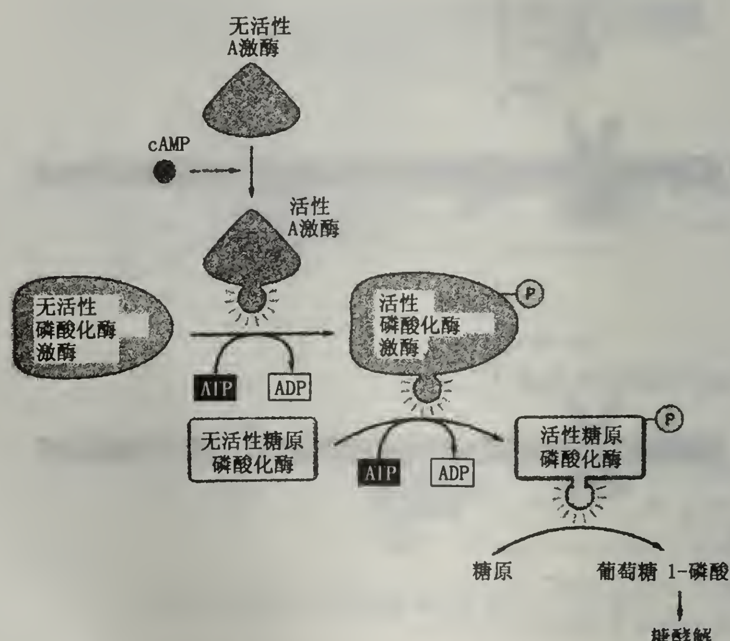


图 13－10　骨骼肌细胞中 cAMP 刺激糖原降解过程示意图

A 激酶结合 cAMP,被激活,激活的 A 激酶又激活磷酸化激酶(磷酸化),后者又使糖原磷酸酶磷酸化而被激活,激活的糖原磷酸化酶催化糖原降解

cAMP 发挥各种效应主要是通过激活一种称为 cAMP 依赖蛋白质激酶(cAMP-dependent protein kinase)来实现的。该酶简称为 A 激酶,通常它无活性,但一旦它与 cAMP 结合,引起构象发生变化,而被激活。活化的 A 激酶催化特定的靶蛋白的丝氨酸或苏氨酸磷酸化,使靶蛋白被激活。动物细胞中普遍含有 A 激酶,但不同细胞中的 A 激酶底物有所不同,因而产生不同的作用。A 激酶的重要作用是使某些基因调节蛋白磷酸化,进而激活特定的基因转录。

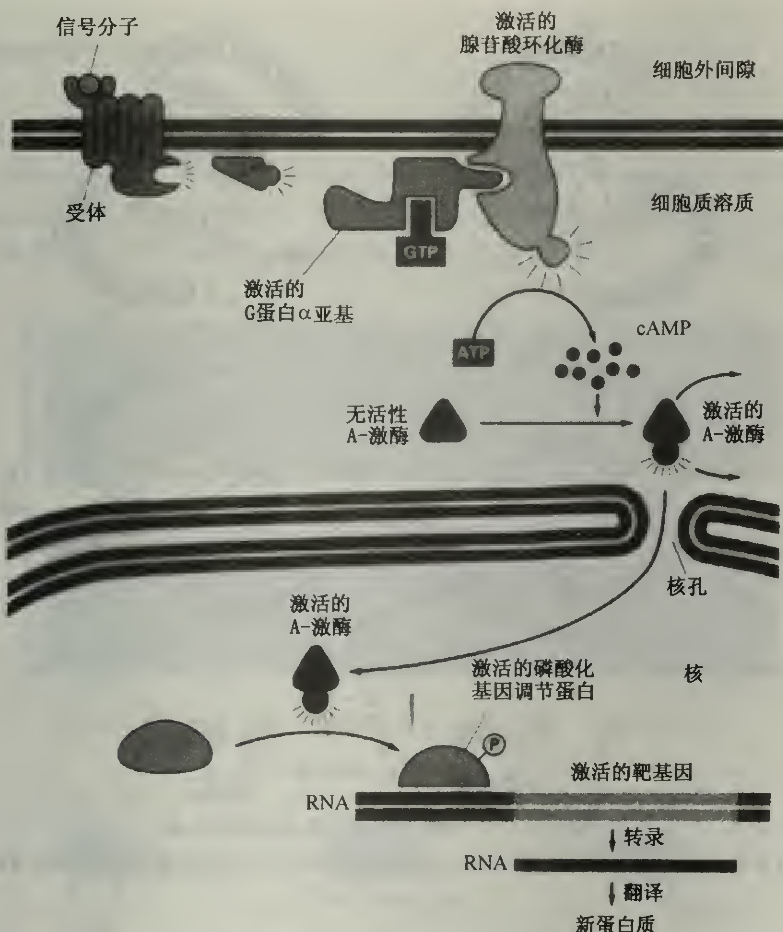


图 13－11　cAMP 浓度升高激活特定基因转录的信号传递图解（自 Alberts et al. 1998）

(二)细胞内的钙信号

前面曾提到过，细胞外和内质网腔中的 Ca^{2+}浓度显著高于细胞质基质。因此，Ca^{2+}在质膜和内质网膜的膜两侧存在着跨膜浓度梯度。膜中的 Ca^{2+}通道一旦被打开，细胞质基质中的 Ca^{2+}浓度会迅即升高，从而引发 Ca^{2+}反应蛋白的变化。

细胞内 Ca^{2+}浓度的骤然提高产生许多重要的生理功能，例如卵受精后启动胚胎的发育；激起肌肉收缩；激发分泌细胞和神经细胞分泌。Ca^{2+}的这些作用是通过影响一种 Ca^{2+}敏感蛋白来实现的，这种蛋白质称为钙调蛋白（钙调素）（calmodulin）。钙调蛋白是 Ca^{2+}的受体蛋白。钙调蛋白分子是由 150 个氨基酸残基所组成，分子中有 4 个 Ca^{2+}结合位点（图 13－12）。一个动物细胞约含有 10^7 个钙调蛋白分子，占总蛋白含量的 1%。钙调蛋白分子结合 Ca^{2+}后，发生构象变化，可参与多种反应的调节过程。

Ca^{2+}对钙调蛋白的别构激活类似于 cAMP 对激酶的别构激活，所不同的是，Ca^{2+}/钙调蛋白无酶活性，它只可与别构的靶蛋白结合，改变靶蛋白的活性。靶蛋白包括酶蛋白和膜运输蛋白。质膜上的 Ca^{2+}-ATP 酶即是一种可被 Ca^{2+}/钙调蛋白激活的 Ca^{2+}泵，激活后可将 Ca^{2+}抽到细胞外。细胞质溶质中 Ca^{2+}浓度升高会激活 Ca^{2+}泵，从而使 Ca^{2+}浓度恢复常态。然而，大多数 Ca^{2+}/钙调蛋白是间接起作用的，还要通过 Ca^{2+}/钙调蛋白依赖蛋白质激酶（Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinases）才能发挥作用，后者又

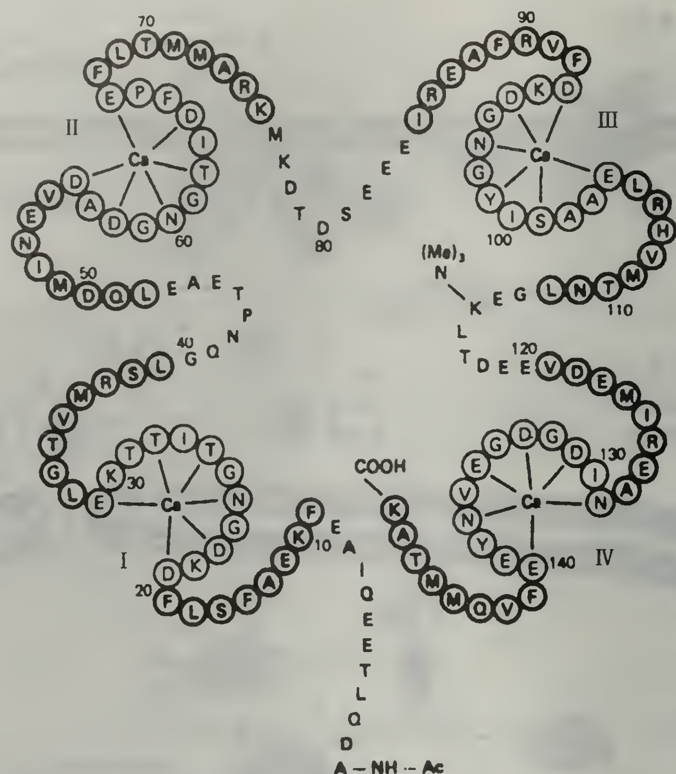


图 13－12　牛脑钙调蛋白氨基酸序列图解

肽链中有 4 个袢，是 Ca^{2+}的结合部位，每一 Ca^{2+}可同 6 个氨基酸结合。肽链中带圈符号序列示 α 螺旋区（自 Klee, G. B. et al. 1980）

称为CaM 激酶（CaM kinases）。CaM 激酶包括有多种，组成了 CaM 激酶家族，它们都能使蛋白质的丝氨酸或苏氨酸磷酸化。

在神经系统中，CaM- 激酶 II 特别丰富，某些脑部位的含量可达总蛋白量的 2%，在突触中更是高度集中。CaM- 激酶 II 是一种分子记忆物质，当被 Ca^{2+}/钙调蛋白激活后，即便是移去 Ca^{2+}，它仍可继续活动。这是因为这一激酶被 Ca^{2+}/钙调蛋白激活后，可发生自身磷酸化（autophosphorylation），也可使其他蛋白质磷酸化。因此，在 Ca^{2+}信号启动反应过程之后，只要磷酸酶活性不超过自身磷酸化活性，该激酶的活性可继续存在。由此可见，CaM- 激酶 II 的激活，可对先前的 Ca^{2+}脉冲起到记忆踪迹（memory trace）的作用。这一现象在脊椎动物神经系统的某些记忆和学习活动中，具有重要意义。

需要说明的是，信号传递的 cAMP 途径与 Ca^{2+}途径之间尚存在着彼此交互作用。因为：①某些降解 cAMP 的酶（如 cAMP 磷酸二酯酶）和合成 cAMP 的酶（如腺苷环化酶）可受到 Ca^{2+}/钙调蛋白复合物的调节。反之，A 激酶能使某些 Ca^{2+}通道和 Ca^{2+}泵磷酸化，改变其活性。②直接受 Ca^{2+}和 cAMP 调节的酶可相互影响，一些 CaM- 激酶可被 A 激酶磷酸化。③这些酶对分担的下游靶分子具有相互作用的效能。因此 A 激酶和 CaM- 激酶往往可分别使同一种蛋白质的不同位点发生磷酸化。

(三)肌醇磷脂信号传递途径

在质膜脂双层的内层中的肌醇磷脂 (inositol phospholipid), 有磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)的 2 个磷酸化衍生物，即 PI-磷酸(PI-phosphate, PIP)和 PI-二磷酸(PI-biphosphate, PIP_2)(图 13－13)。信号分子与质膜上的 G 蛋白关联受体结合后，PIP_2 发生降解。大约有 25 种表面受体利用这一传递途径(表 13－2)。激活的受体又激

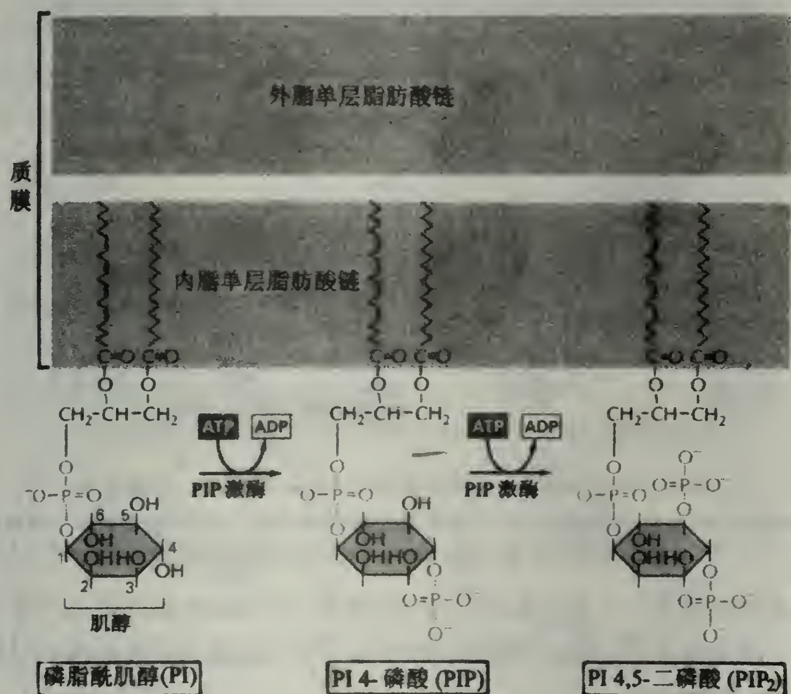


图 13－13　磷脂酰肌醇(PI)磷酸化产生两种多磷酸肌醇(PIP 和 PIP_2)

表 13－2　肌醇磷脂信号传递途径中 G 蛋白关联受体介导的细胞反应

靶组织	信号分子	主要反应
肝	加压素	糖原降解
胰	乙酰胆碱	分泌淀粉酶
平滑肌	乙酰胆碱	收缩
心肌	乙酰胆碱	弛缓
肥大细胞	抗原	分泌组胺
血小板	凝血酶	凝集

活一种称为 G_q 的专一三体 G 蛋白，后者再激活一种称为磷脂酶 C-β 的磷酸肌醇专一磷脂酶 C(phosphoinositide-specific phospholipase C)。在 1 秒钟以内，激活的磷脂酶 C-β 将 PIP_2 切成两种产物，即肌醇三磷酸 (inositol triphosphate) 和二脂酰甘油(diacylglycerol)(图 13－14)，自此信号传递途径即分成两支。肌醇三磷酸是 PIP_2 水解后产生的水溶性小分子离开质膜，在细胞质基质中迅速扩散，结合到内质网膜上的 IP_3 门 Ca^{2+} 释放通道(IP_3-gated Ca^{2+}-release channels)，引起释放 Ca^{2+}(图 13－15)。Ca^{2+} 又

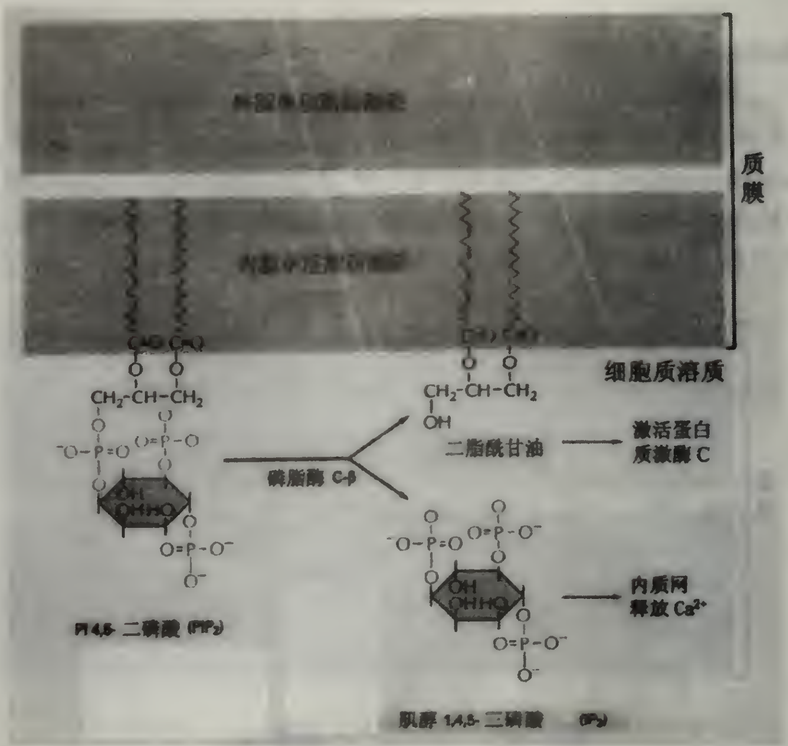


图 13－14　PIP$_2$ 水解成两种细胞内介体分子：IP$_3$ 和二脂酰甘油

IP$_3$ 扩散至细胞质基质，引起内质网释放 Ca^{2+}；二脂酰甘油仍停留在质膜上，激活蛋白质激酶 C；磷脂酶 C 至少有三种，即 β、γ、δ，其中磷脂酶 C-β 可被 G 蛋白关联受体所激活

反馈结合到释放通道上，更加强化了 Ca^{2+} 的释放。有两种机制可使 Ca^{2+} 终止起始反应：①专一磷酸酶使 IP$_3$ 迅速去磷酸化而失活；②进入细胞质基质中的 Ca^{2+} 被迅速泵出细胞外。

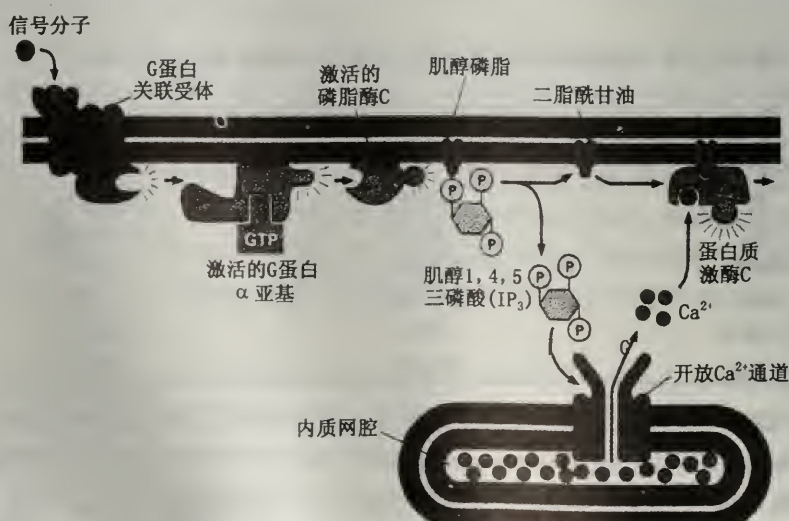


图 13－15　磷脂酶 C 激活的信号传递途径

激活的磷脂酶 C 使肌醇磷脂水解，肌醇 1，4，5－三磷酸（IP$_3$）在细胞质溶质中扩散，与内质网膜上的 Ca^{2+} 通道结合，使通道打开，释放出 Ca^{2+}。Ca^{2+} 与二酰基甘油共同激活蛋白质激酶 C。蛋白质激酶 C 为一组蛋白，不同细胞中有不同的蛋白质激酶 C，它们的靶蛋白有所不同

IP_3 主要的作用是提高细胞质溶质中的 Ca^{2+}浓度，而二脂酰甘油则是激活蛋白质激酶 C(protein kinase C)(又称 C 激酶或 PKC)。C 激酶是 Ca^{2+}依赖性的,故名。IP_3 诱发细胞质溶质的 Ca^{2+}浓度升高,引起 C 激酶发生改变,C 激酶便由细胞质溶质转移到质膜的细胞质面。在 Ca^{2+}、二脂酰甘油和带负电荷的膜磷脂(磷脂酰丝氨酸)的共同作用下,C 激酶被激活。

C 激酶激活时,根据细胞的类型使靶蛋白的专一丝氨酸或苏氨酸磷酸化,从而将靶蛋白激活。C 激酶的激活可通过两条途径促进基因转录:一条是,C 激酶激活一条蛋白质激酶级联反应链,使可与 DNA 结合的基因调节蛋白磷酸化而被激活;另一条是,C 激酶的激活是一种抑制蛋白 (inhibitor protein) 磷酸化,使原先在细胞质溶质中与抑制蛋白结合的基因调节蛋白被释放出,随之进入细胞核,刺激专一基因转录(图 13－16)。

此外,起第二信使作用的物质尚有 cGMP。

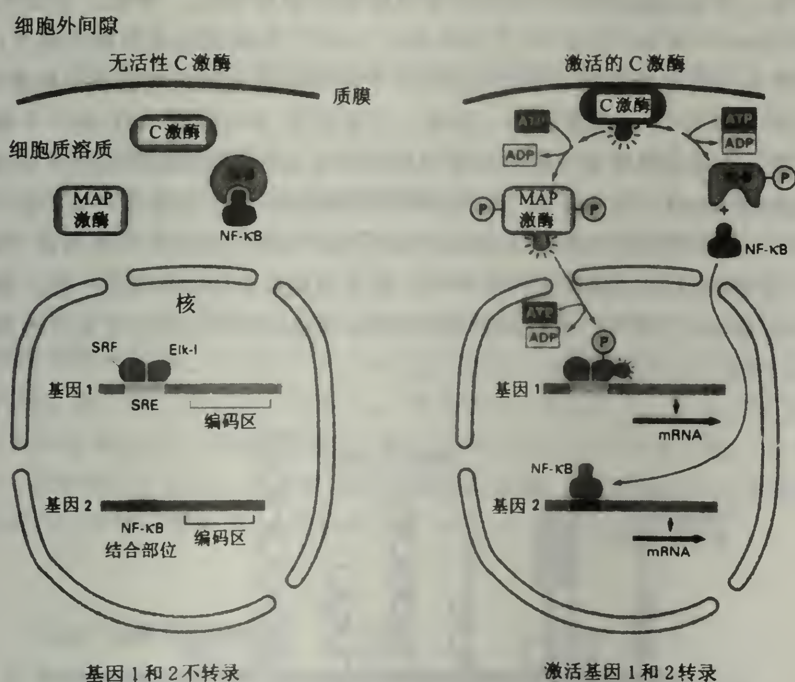


图 13－16　激活的 C 激酶激活专一基因转录的两条途径

C 激酶激活磷酸化梯级链,使 MAP 激酶磷酸化,后者再使基因调节蛋白 Elk-1 磷酸化,被激活的 Elk-1 和血清反应因子(serum response factor, SRF)一起结合到一段称为血清反应成分(serum response element, SRE)的 DNA 短序列;另一条途径是,激活的 C 激酶使 Ik-B 磷酸化,释放出基因调节蛋白 NF-KB,后者进入核,激活专一基因转录

第四节　酶关联受体信号传递途径

酶关联受体都是跨膜蛋白,其特点是,受体在质膜外表面具有配体结合区,而其在细胞质溶质区,或本身具有酶活性,或可直接和一种酶结合成一种复合物。根据它们的作用性质,可将酶关联受体划分为 5 类:①鸟苷酸环化酶受体,催化形成 cGMP;②酪氨酸激酶受体,催化一小群细胞内信号分子的专一酪氨酸磷酸化;③酪氨酸激酶相关受体,与具有酪氨酸激酶活性的蛋白质相关;④酪氨酸磷酸酶受体,从专一细胞内信号蛋白的酪氨酸上去除磷酸基;⑤丝氨酸/苏氨酸激酶受体,使某些细胞内蛋白质的专一

丝氨酸或苏氨酸磷酸化。

一、鸟苷酸环化酶性受体

细胞内的 cGMP 水平受鸟苷酸环化酶（guanylyl cyclase）和 cGMP 磷酸二酯酶（降解作用）的共同控制。胞内产生的 cGMP 再激活 cGMP 依赖蛋白质激酶（G－激酶），后者使特定蛋白质的丝氨酸或苏氨酸残基磷酸化。因此，GMP 环化酶性受体是以 cGMP 为胞内信号的传递介体。

二、酪氨酸激酶性受体

大多数生长因子的细胞表面受体是跨膜酪氨酸性受体。例如，表皮生长因子（epidermal growth factor, EGF）的受体即是由 1200 个氨基酸组成的跨膜糖蛋白，其细胞表面的糖基化部分即是 EGF 的结合部位。受体的细胞内部分具有酪氨酸激酶活性，当 EGF 同受体结合后，激酶被激活。激酶一旦被激活，即可催化 ATP 的一个磷酸基转移到受体蛋白本身或其他专一蛋白的酪氨酸侧链上。受体本身磷酸化称为自身磷酸化（autophosphorylation）。除 EGF 外，受体属酪氨酸激酶性的生长因子还有：血小板生长因子（PDGF）、成纤维细胞生长因子（FGF）、肝细胞生长因子（HGF）、胰岛素、胰岛素样生长因子 -1（IGF-1）、神经生长因子（NGF）、血管内皮生长因子（VEGF）和巨噬细胞集落刺激因子（M-CSF）（图 13－17）。生长因子都是与细胞的生长和分化有关的蛋白质。

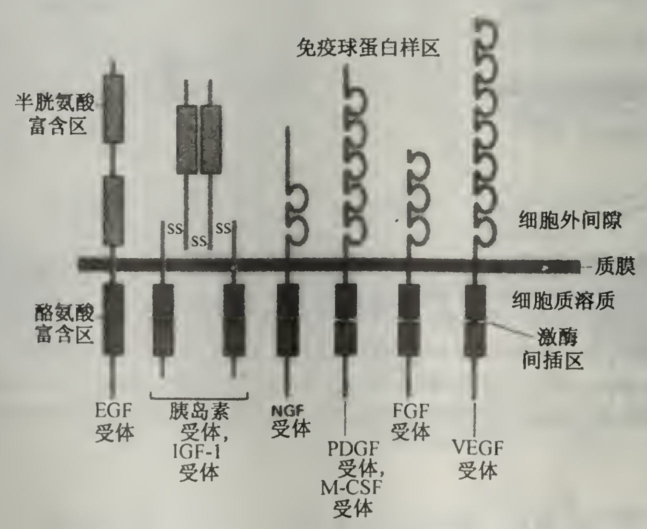


图 13－17　酪氨酸激酶性受体的 6 个亚族示意图

图中只表示出每一亚族的两个成员。有的亚族在酪氨酸激酶区中插入了“激酶插入区”

受体酪氨酸激酶（receptor tyrosine kinase）为跨膜蛋白，其跨膜部分为 α 螺旋，尾部深入细胞质溶质。尾部含有酪氨酸激酶区，当信号分子与受体结合时，两个受体分子相互靠拢，形成受体分子二体，分子的激酶活性被激活，彼此相互催化发生磷酸化。磷酸化的受体酪氨酸激酶为胞内的许多信号传递蛋白（约 10～20 种）提供了结合部位，

结合成复合物(图 13-18)。这种信号传递复合物通过几条途径传递信号,引起若干生化变化,导致细胞增生。受体酪氨酸激酶的磷酸被酪氨酸磷酸酶切去后,活性即中止。

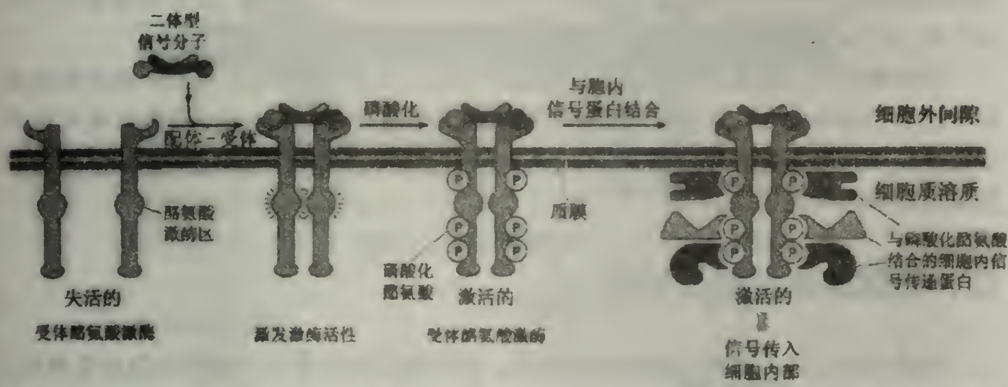


图 13-18 受体酪氨酸激酶被激活后,形成胞内信号传递复合物

有一些与受体酪氨酸激酶结合的胞内信号传递蛋白起接合物(adaptor)的作用,可介导受体与另一些蛋白质结合,使后者激活,将信号传递下去。例如,受体酪氨酸激酶可激活一种小的细胞内信号传递蛋白,Ras 蛋白(图 13-19)。Ras 蛋白结合在质膜的内表面,是一种 GTP 结合蛋白,当结合 GTP 时则被激活。它进一步促进磷酸化级联反应,将信号由质膜传入核。级联反应最后使某些基因调节蛋白磷酸化,调控基因表达模式,从而刺激细胞的增殖、生长和分化。Ras 蛋白通过一系列连接蛋白与激活的受体酪氨酸激酶偶联,最后的一个连接蛋白是 Ras 激活蛋白。激活的 Ras 蛋白可促进磷酸化级联反应。如果 Ras 蛋白受到抗体抑制,则细胞对生长因子不发生反应。反之,如果 Ras 蛋白一直保持活性状态,就好像是受体酪氨酸激酶一直受到生长因子刺激一样,细胞会活跃进行增殖。据检测,人类癌症中有 30% *ras* 基因发生了突变。

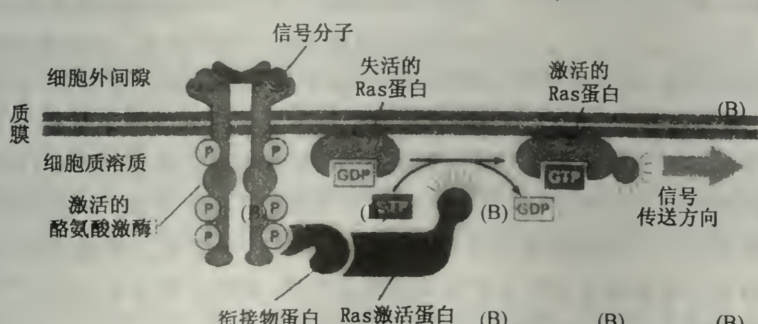


图 13-19 Ras 蛋白在受体酪氨酸激酶激起的磷酸化级联反应中的作用图解

三、酪氨酸激酶关联性受体

有些表面受体本身不具有酶活性,如调节造血系统细胞增殖和分化的细胞因子(cytokines)受体、某些激素(如生长激素和催乳素)的受体和 T 细胞的抗原专一受体

(antigen-specific receptors)。但是这些非酶性受体都和酪氨酸激酶密切关联,当受体结合上配体后,可激活相关联的酪氨酸激酶,后者再催化各种靶蛋白磷酸化。由此可见,酪氨酸激酶关联性受体是通过非受体性的酪氨酸激酶来传递信号。某些原癌基因的表达产物,如 Src 家族和 Janus 家族,即是非受体性的酪氨酸激酶。

起配体作用的细胞因子是动物抗感染产生的一类蛋白质,它们包括干扰病毒复制的干扰素(interferons)、促进 T 细胞快速增殖的白细胞介素(interleukins)和巨噬细胞分泌的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factors)。它们作用到细胞后,通过酪氨酸激酶关联受体途径引起细胞反应。

四、酪氨酸磷酸酶性受体

有些表面受体具有酪氨酸磷酸酶活性,能把特定的靶蛋白的磷酸酪氨酸脱磷酸,从而使酪氨酸磷酸化作用不会持续时间过长,也可使静息细胞(resting cells)中的酪氨酸磷酸化作用保持在极低的水平。例如,白细胞表面的 CD45 蛋白即属于此类受体,CD 是"cluster of differentiation"(分化抗原群)的缩略代称,现已发现有 100 多种,最初首先在 T 细胞表面发现。它是一种一次穿膜的糖蛋白,在外来抗原激活 T、B 淋巴细胞中起重要作用。它的酪氨酸磷酸酶区暴露在质膜的细胞质面,当它结合上细胞外配体时,其催化区被激活,使特定的靶蛋白的酪氨酸脱去磷酸。它有一种靶蛋白是 Lck 酪氨酸激酶,Lck 被 CD45 脱磷酸后被激活,进而使细胞中其他的蛋白质磷酸化。

五、丝氨酸/苏氨酸激酶性受体

这类受体被激活后,可使细胞内某些蛋白质的特定丝氨酸或苏氨酸磷酸化,从而被激活。例如,转化生长因子-β(tranforming growth factor-βs, TGF-β)超族(superfamily)的表面受体即具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性,其活性部位存在于质膜的细胞质基质的一侧。转化生长因子-β是脊椎动物中调节各种细胞的增殖和功能活动的局部介体(local mediators),它们对不同的细胞发生不同的作用,如抑制细胞增殖、刺激合成细胞外基质、促进成骨等。有的细胞外信号蛋白在结构上与 TGF-β 相近,如激活素(activin)在脊椎动物发育的中胚层诱导中发挥重要作用。

从前面我们所介绍的细胞信号传递系统来看,其复杂性远远超出了我们的想象。细胞外信号配体分子多种多样,不同的配体分子可激活不同的受体,不同的受体又可激活不同的靶蛋白,不同的靶蛋白参与了不同的信号传递途径,激起不同的级联反应。各种胞内信号传递途径之间又有彼此的相互作用,组成了极其复杂的信号调控网络。根据目前的研究资料,可将胞内的信号传递途径概括成 4 条,即经 G 蛋白关联受体转导,通过 cAMP 和磷脂酶 C 传导的两条;经酶关联受体转导,通过磷脂酶 C 和 Ras 传导的两条。各条传递途径彼此有所不同,各有各的组成成分。可是它们之间又有着交叉作用关系,组成相互联系的作用网络。各个途径最后都是激活蛋白质激酶,调节细胞的各种代谢过程(图 13-20)。

然而,这些概略的资料已预示出,细胞内的信号传递系统纵横交错,形成了无比复杂的精密网络,艰巨的研究任务还在前方,要破译出全部细胞语言,还不能指日可待。

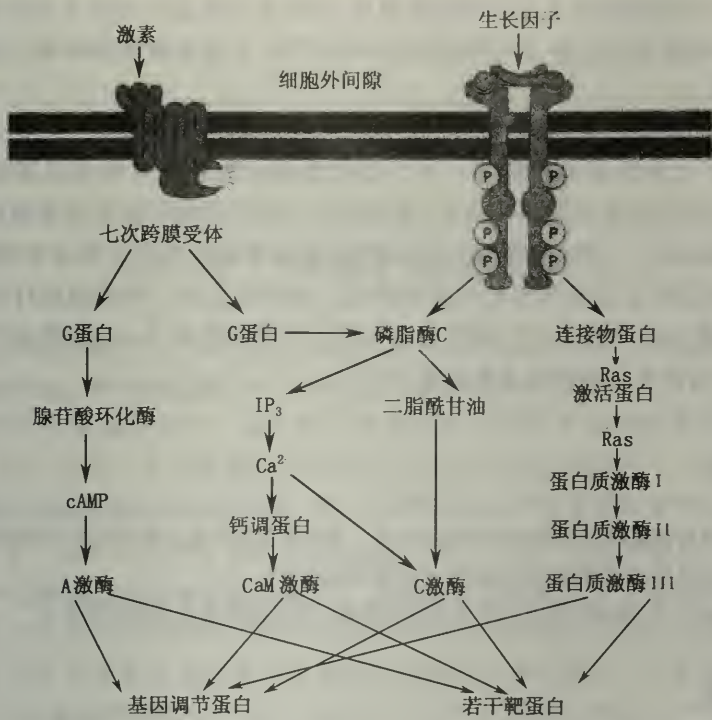


图 13－20　细胞内 4 条信号传递途径

图示细胞内 4 条信号传递途径和它们之间的相互关系，由 G 蛋白关联受体经 cAmP 和磷脂酶 C 者两条；由酶关联受体经磷脂酶 C 和 Ras 者两条。这些途径中的蛋白质激酶可使许多蛋白质(包括其他途径中的一些蛋白质)磷酸化。各个途径最后激活许多靶蛋白和基因调节蛋白，调控着细胞的生命活动

提　要

多细胞有机体的生命活动是通过细胞活动的相互协调进行的，细胞间建立了复杂而有序的通讯联络关系。细胞可释放一些能引起其他细胞发生反应的信号分子，产生信号分子的细胞称为信号细胞，对某种信号分子发生反应的细胞称为靶细胞。靶细胞中含有可同专一信号分子结合的受体，将细胞外信号转变为细胞内信号。细胞内的信号传递过程形成了梯级链式传递途径。信号传递途径最后表现为影响核中特定基因的表达。

靶细胞中可与细胞外信号分子结合的受体多种多样，有的位于质膜上，有的分布于细胞内。水溶性信号分子直接同质膜上的受体结合，脂溶性的小信号分子可穿越质膜脂双层，与细胞内受体结合。受体是蛋白质分子，结合配体后被激活。根据受体蛋白的结构和性能，质膜上的受体可分为离子通道关联受体、G 蛋白关联受体和酶关联受体三大类。其中，G 蛋白关联受体中的 G 蛋白，在激活的受体将细胞外信号转变为细胞内信号的过程中起中介作用。此外，在靶细胞内信号传递中，被激活的受体释放出小分子起穿针引线的作用，这些小分子称为第二信使，起第二信使作用的小分子有 cAMP、Ca^{2+}和肌醇三磷酸(IP_3)。

细胞内信号传递级联反应链 (signaling cascades) 有许多种，每种级联反应链往往

要涉及到若干种其细胞内介体作用的蛋白质,有的是几种蛋白质组合起作用。在一个靶细胞中,多种级联反应链之间尚有交叉相互作用,于是在细胞内形成了错综复杂的信号传递网络。

细胞内复杂的信号传递网络只是复杂的生命现象的一个侧面,近年来这方面的研究已取得了大量的研究资料,一个广阔的细胞生物学研究领域正展现在我们面前。前一章中我们曾提到蛋白质组学,即是在这一研究领域不断取得进展的基础上诞生的。在生命活动中,基因组的活动固然重要,但是细胞作为生命最基本的载体来说,蛋白质组活动无疑更是需要探明的复杂领域。如果有人把人类基因组计划比作是登月计划的话,那么蛋白质组计划就要比登火星计划更加宏伟了。细胞类似于浩瀚宇宙的缩微,登月仅仅是人类宇宙之旅的第一步。

复习思考题

1. 说明胞内信号传递级联反应链传递信号的原理。基因表达如何通过信号传递受到调控?
2. 你认为胞内信号传递在细胞生命活动中占有怎样的地位?
3. 通过对本章的学习,你认为胞内信号传递网络领域有哪些值得重点研究的突破点?

主要参考文献

杜　欣,唐建国,1999. 胰岛素受体介导的信号传递. 生物化学与生物物理进展,26(1):12~15

黄　芬,1997. 细胞质膜微囊与信号转导. 生物化学与生物物理进展,24(3):194~198

李　智,任一萍,1998. 神经生长因子的信号转导.. 生命的化学,18(4):13~16

汪堃仁,薛绍白,柳惠图主编,1998. 细胞生物学. 北京:北京师范大学出版社,409~435

周志琦,刘　强,1998. 真核生物的 MAPK 级联信号传递途径. 生物化学与生物物理进展,25(6):396~503

Alberts, B., Bray, D., Johnson, A. *et al.*, 1998. Essential Cell Biology——An Introduction to the molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc., New York & London. 481~509

Crabtree, G. R., 1999. Generic Signals and Specific Outcomes: Signaling through Ca^{2+}, calcineurin, and NF-AT. Cell, 96(5): 611~614

Edlund, T. And Jessell, T. M., 1999. Progression from Extrinsic to Intrinsic Sgnaling in Cell Fate Specification: A View from the Neurous System. Cell, 96(2): 211~224

Hanley, J. G., Kaulen, P., Bedford, F. *et al.*, 1999. The Protein MAP-1B links GABAc Receptors to the Cytoskeleton at Retinal Synapses. Nature, 397: 66~69

Wang, H., Bedford, F. K., Brandon, N. J. *et al.*, 1999. GABA $_A$-receptor-associated Protein links $GABA_A$ Receptor and the Cytoskeleton. Nature, 397: 69

Weiss, A. & Schlessinger, J., 1998. Switching Signals On or Off by Receptor Dimerization. Cell, 94: 277~280

第十四章

细胞的基因表达和蛋白质的生物合成

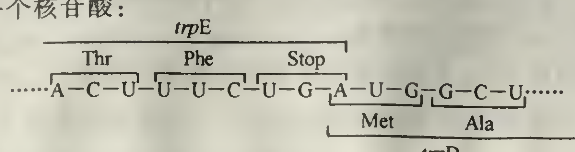
第一节　细胞中的遗传物质

细胞中的遗传物质为 DNA，DNA 的遗传特性主要表现在四个方面，即贮存遗传信息、传递遗传信息、突变和复制。DNA 所贮存的遗传信息是编码在自身的分子结构中，以核苷酸序列作为编码形式，具有特定核苷酸序列的最小遗传功能单位称为基因(gene)。自 1977 年建立了核苷酸序列分析技术之后，便能直接验证一个基因翻译成多肽链时，密码子和氨基酸的对应关系。DNA 所携带的遗传信息最终要用来指导蛋白质的合成，在这一过程中由信使 RNA(messenger RNA, mRNA) 承担信息的传递。DNA 分子中专一氨基酸的编码单位称为密码子 (codon)，它的密码要通过 mRNA 上的密码子才能表现出与氨基酸的对应关系。20 世纪 70 年代后期通过的核苷酸序列分析技术以及人工合成生长激素释放抑制因子基因的实验等，都已证明一个基因表达成多肽链时，密码子同氨基酸的对应关系。这也就是说各种多肽链在 DNA 分子中都有对应的基因存在，正是通过基因的表达能够使上一代的性状、特征等准确地在下一代中表现出来，保证物种的延续。

一、原核细胞中的遗传物质

原核细胞中的基因组很小，其 DNA 常是一条分子量为 10^9 左右的共价闭合的双链分子。如大肠杆菌 DNA 的分子量为 2.4×10^9，总长约 1.3mm，约含 3000～4000 个基因。原核 DNA 分子的绝大部分都是用于编码蛋白质，只有极少的一部分不转录。这显然不同于真核细胞中 DNA 的冗余现象。这种不转录的 DNA 通常是控制基因表达的调控序列，如用为基因表达的 RNA 聚合酶的结合位点、核糖体结合位点、起始或终止信号区等控制元件。

近年来，人们还发现原核细胞内有重叠基因，即同一段 DNA 能携带两种不同蛋白质的信息。重叠基因最早是在大肠杆菌噬菌体 ΦX174 中发现，其 B 基因包含在 *A* 基因内，*E* 基因包含在 *D* 基因内，用不同的阅读方式便可得到不同的蛋白质。以后的研究表明，在细菌的基因组内也有重叠基因存在。重叠基因的生物学意义是不但可以包含更多的遗传信息，而且还有可能影响基因的表达调控。色氨酸操纵子(trp operon)中的 *trpE* 基因和 *trpD* 基因之间的翻译耦联就是一例。色氨酸操纵子中有 5 个结构基因(*trpE*、*trpD*、*trpC*、*trpB*、*trpA*)，其中 *trpE* 和 *trpD* 基因中核苷酸序列与翻译有着耦联的关系，这表现在 *trpE* 基因的终止密码子和 *trpD* 基因的起始密码子共用一个核苷酸：



由于 *trpE* 的终止密码子与 *trpD* 的起始密码重叠，以致 *trpE* 翻译终止时，核糖体又立即处在起始环境中，这种密码子的重叠就保证了同一核糖体对两个相连续基因进行翻译的机制。已有实验证明，耦联翻译是保证两个基因产物在数量上对等的重要机制。

在原核生物 DNA 序列中功能相关的 RNA 和编码蛋白质基因，常丛集在某一个或几个特定区域，构成一个功能单位或转录单元，并被转录成含多个 mRNA 的分子，称为多顺反子 mRNA。大肠杆菌中，由几个结构基因及其操纵基因、启动子所共同组成的操纵子就是一种转录功能单位。如乳糖操纵子(lactose operon)包括 3 个结构基因以及有关的启动区和操纵区。

二、真核生物的遗传物质

真核细胞中 DNA 的分子量远远超过原核细胞的 DNA，如人类细胞单倍体基因组所含的总 DNA 达 $2\times10^9\sim3\times10^9$ bp，约为大肠杆菌总 DNA 的 1000 倍，有 10 万个以上的基因。真核细胞内 DNA 的最大特点是它含有大量的重复序列，因此可把真核 DNA 大致划分为三类，即非重复序列、中度重复序列和高度重复序列。

在一个单倍体基因组中，一般只有 1 个或几个拷贝的序列就称为非重复序列，约占基因组内 DNA 总重的 40% ~80%，如在果蝇中占 79%，在小鼠中占 70%，牛细胞中占 55%。非重复序列长约 750 ~2000bp，相当于一个结构基因的长度。事实上，真核生物中大多数结构基因都是非重复序列的，如血红蛋白、珠蛋白、蚕的丝心蛋白等都是单拷贝基因。单拷贝基因通过转录出许多 mRNA 分子，基因扩增可以合成大量的蛋白质。如一个蚕丝心蛋白基因可合成 10^4 个丝心蛋白 mRNA。每个 mRNA 能存活 4 天，可合成 10^5 个丝心蛋白。这样，一个单拷贝丝心蛋白基因在 4 天内可以合成 10^9 个丝心蛋白分子。

重复次数在 $10\sim10^4$ 之间的一类序列称为中度重复序列，约占细胞中总 DNA 的 10% ~40%，各种 rRNA、tRNA 以及某些结构基因如组蛋白基因等都属于中度重复序列。中度重复序列常是分散在非重复序列之间。重复次数在百万次以上的称为高度重复序列。高度重复序列在细胞核总 DNA 中约为 10% ~60%。在高度重复序列中 A · T 对含量很高。由于 A · T 浮力密度较小，所以在氯化铯(CsCl)密度梯度离心时，常在 DNA 主峰外形成 DNA 小峰，后者就是卫星 DNA。如人的 DNA 经 CsCl 离心后可得到 4 条卫星 DNA 区带。原位杂交法已证明许多卫星 DNA 多位于染色体的着丝粒附近的异染色质区。卫星 DNA 不转录，功能还不明确，可能与染色体的稳定性有关。

通过 DNA 序列分析表明，真核生物一个基因中的核苷酸序列与直接翻译成基因多肽产物的 mRNA 不一致。实际上，刚转录出的前 mRNA 比正在指导翻译多肽链的 mRNA 要长得多。由此可见，在一个基因中必定存在着非编码序列，这些序列在转录后被切除。一个基因中的非编码区称为内含子 (intron)，编码区则称为外显子(exon)，二者间插排列。几乎所有的真核生物及其病毒的基因都含有这两种编码序列，而原核生物及其病毒则无此现象。

此外，真核细胞 DNA 常与组蛋白和大量非组蛋白相结合，只有一小部分 DNA 是裸露的。而原核生物 DNA 是裸露的。

第二节 细胞内遗传物质的复制与扩增

以原有的DNA为模板,仿制出携带遗传信息的新载体(子代DNA)的过程,即称为DNA复制。

生命延续过程中的关键是染色体的自我复制，而染色体的复制主要是通过DNA的半保留复制来实现。染色体DNA的复制与细胞分裂之间存在着密切的相互关系，只有经过DNA准确复制，细胞才分裂，把亲代细胞所含的遗传信息分配到子代细胞中去。

原核生物和真核生物的DNA复制有许多共同特点。但这方面的工作在原核生物中的研究较为详细。

一、原核生物的DNA复制

根据Watson-Crick模型，DNA分子是由两条多核苷酸链结合起来的双螺旋结构，两链上相配对的碱基是一定的,所以两链间有互补关系。只要一条链的碱基序列确定,就可以确定另一条链的碱基序列,这也就是,DNA分子的每一条链都含有合成其互补链所需的全部信息。因此,Watson和Crick说:“我们认为,在临复制时氢键断开,两股链解旋分离,然后以每一股为模板,在其上形成一股新的互补链,而且碱基对顺序复制得准确无误”。实验证明他们的推论是正确的。

(一)半保留复制

复制时,DNA两股链间的氢键首先断裂,双螺旋解旋和分开,在DNA聚合酶的作用下,吸收周围的脱氧核苷三磷酸，以原有的单链为模板分别合成新的互补链再相互盘绕而成新的双螺旋DNA分子。这样，每一新的DNA分子是由一股亲链(旧链)和一股新链构成。这就称为半保留复制(semiconservative replication)。

1958年M. Meselson和F. Stahl用^{15}N标记大肠杆菌3个世代的DNA，证明了这种半保留复制的方式。氮的原子质量是14，^{15}N是^{14}N的放射性核素，比^{14}N重些。将大肠杆菌放在含^{15}N的培养基中充分培养后，其DNA分子就都标记上了^{15}N放射性核素。显然，^{15}N-DNA的比重大于^{14}N-DNA的比重。经氯化铯密度梯度离心后，这两种DNA在离心管内的沉降位置不同，重的DNA更靠近离心管的底部。由于DNA分子吸收紫外线，因此采用紫外线照像便可记录下DNA分子带在离心管中的部位。

在此实验中，当把大肠杆菌在含^{15}N的培养基中培养几代之后，再转移到含^{14}N的培养基中培养1代，然后从这样培养的细菌中提取DNA，其比重介于^{15}N-DNA带和^{14}N-DNA带之间，即其DNA双链中含有一股重链，一股轻链。如果把这种大肠杆菌再在含^{14}N的培养基中培养1代，所抽提的DNA分子在离心管中则出现了两条沉降带:1条为轻型DNA带,1条为中间型DNA带,说明有一半细菌只含^{14}N-DNA,而另一半所含的DNA分子其一股含^{14}N,另一股含^{15}N(图14-1)。这一实验有力地证明了大肠杆菌DNA的半保留复制。DNA的这种半保留复制保证了DNA在代谢上的稳定性,而这种稳定性与DNA的遗传功能相符。

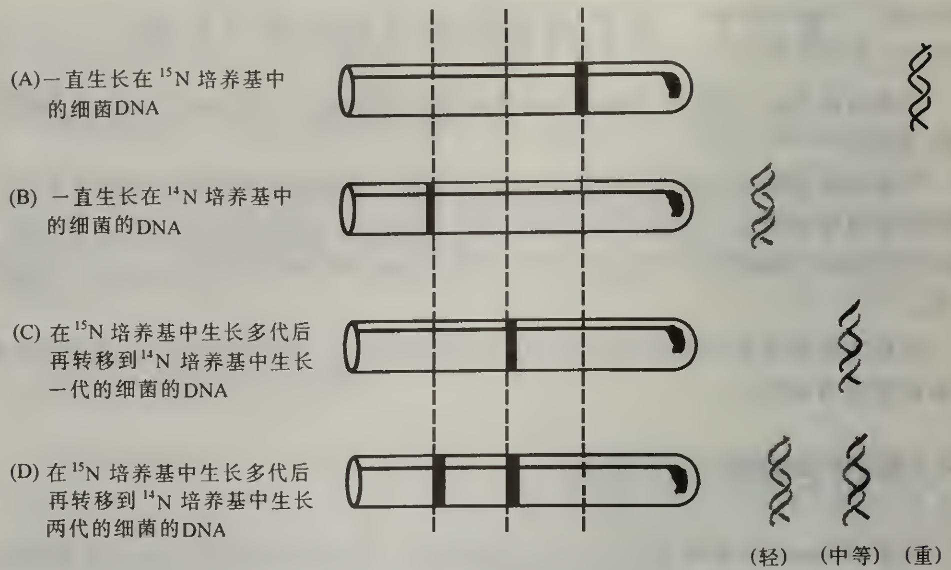


图 14－1　证明大肠杆菌 DNA 分子进行半保留复制实验的示意图

(二)DNA 聚合酶

DNA 复制是通过核苷酸聚合成核苷酸链而实现的，这一过程需要有 DNA 聚合酶的参与。在大肠杆菌中已发现有 3 种不同的 DNA 聚合酶。

DNA 聚合酶 Ⅰ是最先被发现的一种 DNA 聚合酶，是 A. Kornberg 于 1955 年在大肠杆菌中找到的，所以又称 Kornberg 酶。该酶的分子量为 109×10^3，是一条多肽链，含有一个锌原子。每个大肠杆菌中约含 400 个 DNA 聚合酶 Ⅰ分子。这种酶可以催化核苷酸加到已存在的多核苷酸的 3′-OH 末端，使新合成的互补多核苷酸链沿 5′→3′的方向延长。在 37℃条件下，每个酶分子每分钟可聚合 1000 个核苷酸分子。除上述功能外，DNA 聚合酶 Ⅰ还具有其他功能，如它有 3′→5′核酸外切酶活性，即催化 DNA 从 3′羟基末端发生水解，切除不配对或错配的核苷酸。另外，DNA 聚合酶 Ⅰ还有 5′→3′核酸外切酶的功能，可作用于双链 DNA 的碱基配对部分，从 5′端切除核苷酸和切去 RNA 引物。因此，这种酶能防止 DNA 复制中发生错误，保证准确复制。DNA 聚合酶 Ⅰ不是一种主要的复制酶，其主要的功能是修复 DNA 损伤，一个细菌中只要有正常细胞含量的 0.5%～1% 聚合酶 Ⅰ就可维持正常的生长和发育，然而它在 DNA 复制中却是不可缺少的重要复制酶。没有完全缺乏 DNA 聚合酶 Ⅰ的突变体。

1969 年 J. Cairns 在 DNA 聚合酶 Ⅰ活性极低的大肠杆菌 pol A^-突变体中发现了 DNA 聚合酶 Ⅱ，分子量为 12×10^4，每个细胞中约含 100 个酶分子。DNA 聚合酶 Ⅱ具有 5′→3′方向的聚合酶活性，只是其转化率低，仅为 DNA 聚合酶 Ⅰ的 5%，它也不是主要的复制酶。DNA 聚合酶 Ⅱ还具有 3′→5′外切酶活性，但无 5′→3′外切酶活性。DNA 聚合酶 Ⅱ的作用尚不清楚，目前认为其主要的生理功能是可修复 DNA 损伤。

DNA 聚合酶 Ⅲ是一种多亚基的蛋白质复合物，全酶的 *Mr* 约 900Da。每个细胞中约含 10～20 个 DNA 聚合酶 Ⅲ酶分子，最初测得其转化率相当于 DNA 聚合酶 Ⅰ的 15 倍和 DNA 聚合酶 Ⅱ的 300 倍。它具有 5′→3′方向的聚合酶活性，也有 3′→5′的核酸外

切酶活性。根据对缺乏 DNA 聚合酶Ⅲ的大肠杆菌 pol C⁻突变体的研究，DNA 聚合酶Ⅲ是大肠杆菌中的主要复制酶。DNA 聚合酶Ⅲ全酶至少是由 10 种不同的蛋白质亚基（α、ε、θ、τ、γ、δ、δ′、χ、Ψ 和 β）组成（图 14－2）。其中 α、ε、θ 亚基构成核心酶，α 是具有催化活性的聚合酶亚基，ε 是 3′→5′外切酶。β 亚基（曾称为辅聚合酶Ⅲ）是一个多肽链的二聚体，能识别和结合亲本 DNA 链上的引物模板，与 DNA 聚合酶Ⅲ核心酶沿 DNA 双螺旋持续复制有关。DNA 复制过程中，除 DNA 聚合酶参与外，还涉及到其他的一些酶和蛋白质。

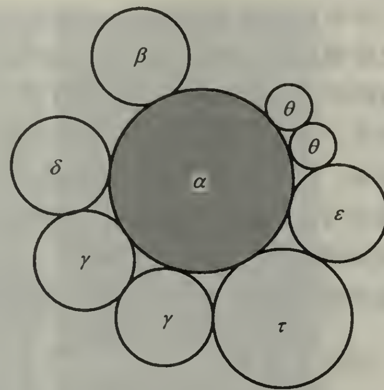


图 14－2　RNA 聚合酶Ⅲ的组成

（三）DNA 复制的基本过程

DNA 双螺旋分子在自然状态下，是以超螺旋形式卷曲在细胞内，所以当 DNA 分子进行复制时，首先是由拓扑异构酶（topoisomerase）或拓扑酶将超螺旋解旋成 DNA 双螺旋，然后才能起始复制。

1. DNA 双螺旋在复制叉处解旋

复制时 DNA 双螺旋首先要在复制起始点处解螺旋，这一过程需要几种酶和另外几种蛋白质参加，如 DNA 解螺旋酶、单链结合蛋白等。

DNA 解螺旋酶（DNA helicase）是一种 ATP 酶，通过水解 ATP 获得能量，打开双链间的氢键，催化 DNA 双股链分离。这种解螺旋酶分解 ATP 的活性依赖于单链 DNA 的存在，如果双链 DNA 中有单链末端或切口，DNA 解螺旋酶就首先结合于这一部分，然

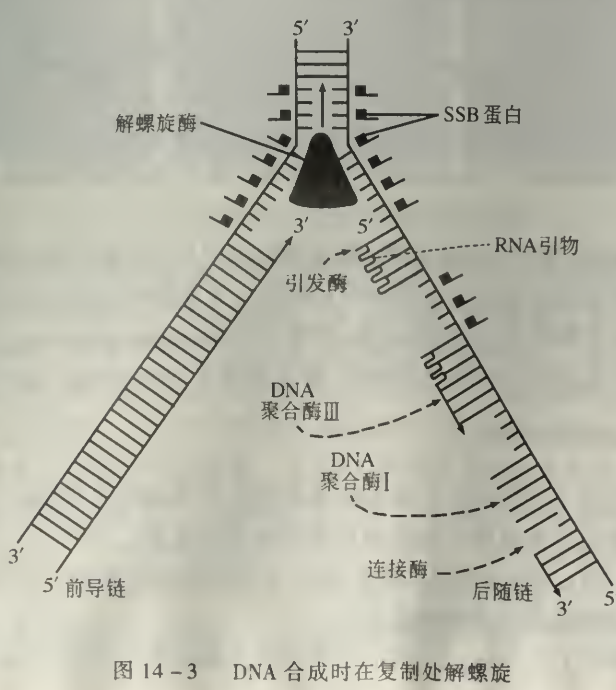


图 14－3　DNA 合成时在复制处解螺旋

后逐步向双链方向移动。单链结合蛋白(single-strand binding protein,简称SSB蛋白,又称螺旋去稳蛋白(helix destablizing protein)以四聚体形式和DNA中的糖-磷酸干链结合,故无序列专一性。SSB蛋白分子呈长形,能紧密地与10个核苷酸结合,且蛋白质分子彼此连接成线。SSB并无催化作用,而是使DNA单链取直,有助于复制时碱基配对。在复制过程中,SSB蛋白分子随DNA解旋而先后轮流在后方解离下来,再移向前方与单链结合,反复循环发挥作用。另外还有一种Rep蛋白也有解链酶的作用,现在知道它是沿前导链模板的3′→5′方向移动,因而推测ReP蛋白与特定DNA解螺旋酶分别在DNA两股亲本链上协同作用,来解开双链DNA(图14-3)。

2. DNA双股链均以5′→3′的方向进行复制

DNA复制常是从一定的起始点开始,两股链都是以5′→3′的方向进行复制。在细菌和病毒染色体上,这一起始点为一个特定的序列,复制活动在环状分子上沿单向或双向进行,一般是行双向复制(图14-4)。

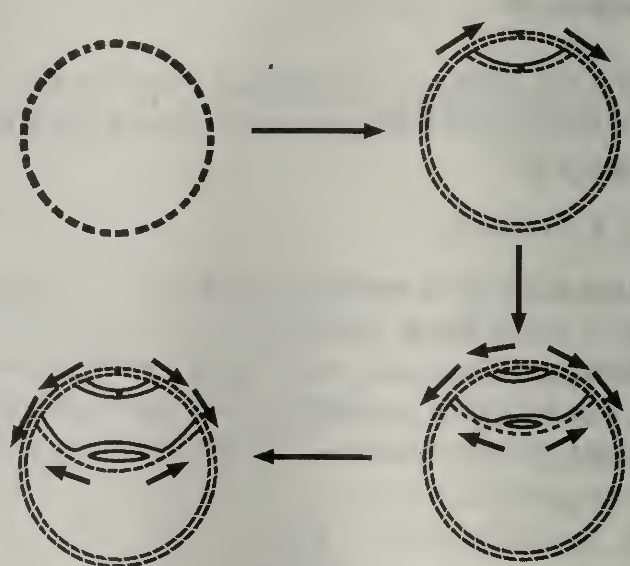


图14-4　细菌环状DNA双螺旋复制图解

复制过程由一个复制起始点开始,双向进行,箭头示复制叉进行的方向

在细菌中,DNA分子是环状结构,临复制时,DNA分子有一段小区域解旋,随即每一股亲链分别都互补合成上了一股新的互补链。在复制时,DNA分子仍保留环状,以致出现一个形似希腊字母“θ”状的结构,即称θ结构(theta structure),这种外形可从电镜下观察到。正在进行合成的分叉部位,称为复制叉(replicating fork)(图14-5)。

3. 拓扑异构酶切封DNA链

DNA双螺旋分子在复制叉处通过解螺旋酶打开氢键形成双股链,解链时,如果链不切断,则必然会导致复制叉前面的双螺旋链更加纽紧。但实际上并未发生这种状况,这是由于在DNA复制过程中,随着DNA双螺旋的不断解链,拓扑异构酶也同时使DNA双螺旋和超螺旋发生着解螺旋变化。

拓扑异构酶是J. C. Wang于1971年首先在大肠杆菌中发现的。此酶有两种,分别

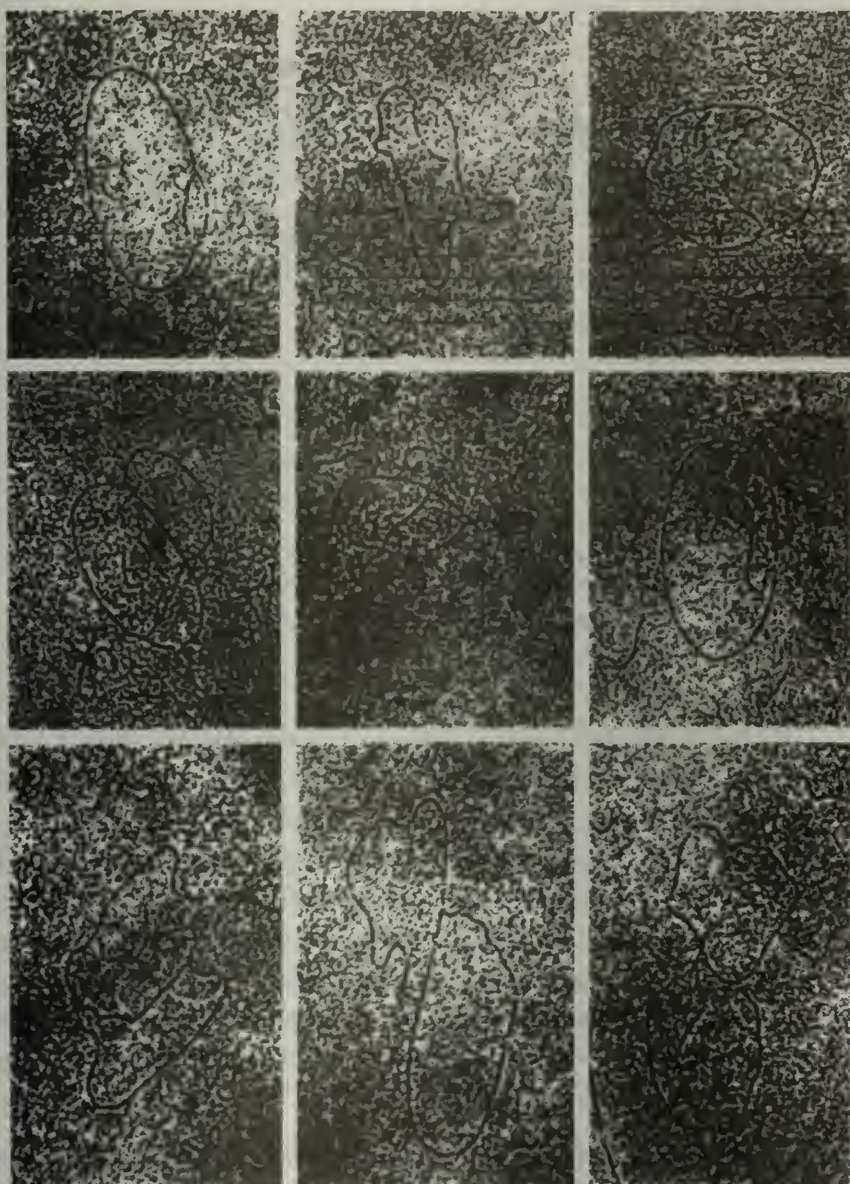


图 14－5　复制时的复制眼(θ 状结构)电镜图

称拓扑异构酶 I和拓扑异构酶 II,原核生物和真核生物细胞中均有这两种异构酶。拓扑异构酶 I可在 DNA 双螺旋的一股上造成切口，通过酶的酪氨酸同切口 5′端的磷酸二酯键共价结合,磷酸二酯键原有能量就被贮存到磷酸酪氨酸链中。切口两端的链可绕相对的互补链旋转，使 DNA 双链的螺旋紧张性松弛，在复制叉前方松弛了的这一 DNA 片段就能进行复制。以后切口两端又重新封闭形成磷酸二酯键，该拓扑酶离开 DNA 链。这一变化不需要另外的能量。在 DNA 转录过程中也发生这种变化。

拓扑异构酶 II可被两条 DNA 双螺旋的交叉所激活，而与一条 DNA 双螺旋的两股链形成共价键,造成切口,在酶构象改变的牵引下,使另一 DNA 双螺旋穿过此切口,随后,此双链切口重新封闭,酶离去。这一变化有利于拓扑异构酶 I的作用,防止因 DNA 复制中造成两超螺旋的扭缠（图 14－6)。拓扑异构酶 II可作用于（+）超螺旋使变成

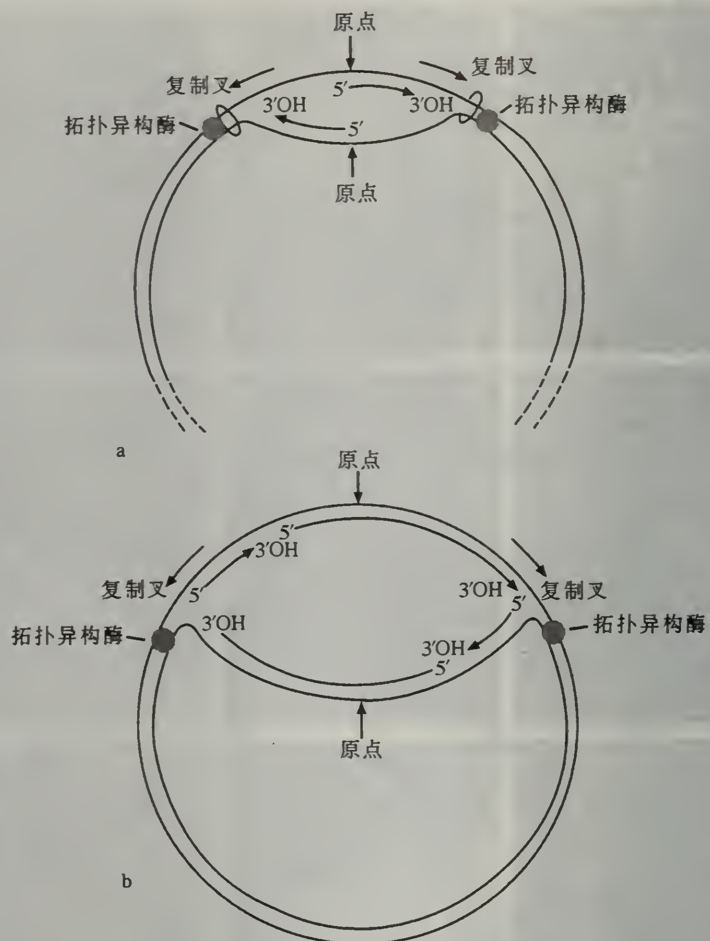


图 14－6　拓扑异构酶 I的作用

(a)复制开始时，染色体在复制原点处解旋，每一股亲链上合成 RNA 引物。随着亲链 DNA 继续解旋，拓扑异构酶使每一复制叉前方的双螺旋纽绞继续构解；(b)RNA 引物沿每一股亲链以 5′→3′方向倒行合成 RNA 引物。子染色体中的起始原点只有当细胞具备再起始条件时，才被激活

(－)超螺旋，而对(－)超螺旋无效(图 14－7)。拓扑异构酶Ⅱ的催化反应须利用 ATP 的能量。拓扑异构酶Ⅱ也有使环状 DNA 双螺旋形成负超螺旋的作用，故又称为促螺旋酶(gyrase)。正是拓扑异构酶 I与Ⅱ的协调作用，保证了 DNA 的拓扑结构。原核细胞的 DNA 环复制后，两个子环套连在一起，这两个子环靠拓扑异构酶分离开(图 14－8)。

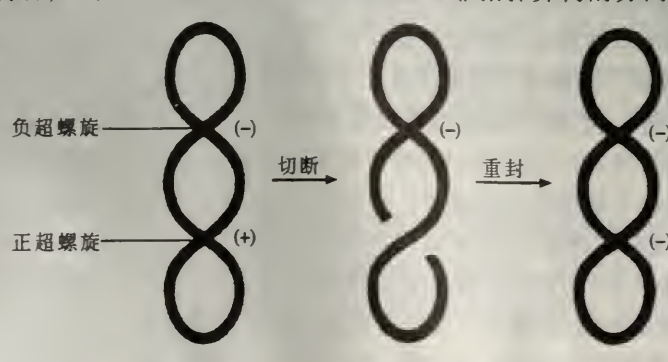


图 14－7　拓扑异构酶Ⅱ的作用

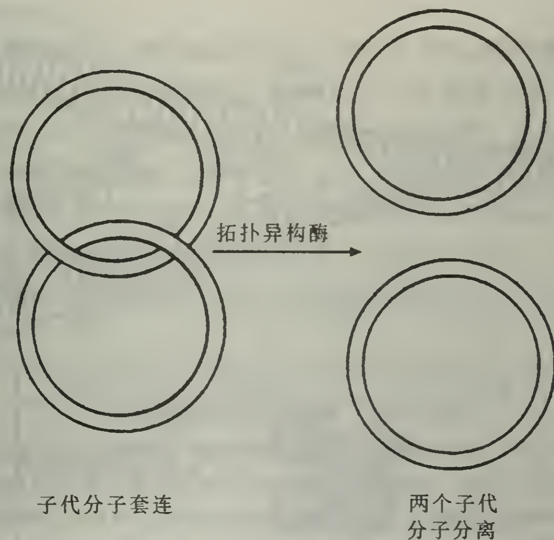


图 14－8　原核生物 DNA 复制后，在拓扑酶的作用下两个子环分开

4. 冈崎片段与半不连续复制

DNA 双螺旋的两股链为反向平行，因此在复制叉附近解开的 DNA 链，一股是 5′→3′方向，另一股则是 3′→5′方向，两个模板的极性不同。但已知 DNA 聚合酶 Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ却都是按 5′→3′的方向来催化 DNA 合成。那么，作为复制模板的那股 5′→3′的亲本链，其子链又将如何复制呢？1968 年冈崎（R. Okazaki）回答了这一问题，并提出 DNA 复制中半不连续复制（semidiscontinous replication）的模型。他用 ^{3}H 脱氧胸苷短期标记大肠杆菌，从中提取 DNA 并经变性，再用超离心方法得到了一些 8～10S 的小片段。当延长标记时间，这些片段可转变为成熟的 DNA 链。因此他认为这些小片段必然是复制过程的中间产物。根据这个结果，冈崎指出在 DNA 复制中以复制叉前行方向为标准，3′→5′模板链所合成的新链是按 5′→3′方向连续聚合的，其合成活动完成较早，故称为前导链（leading strand）。反之，以 5′→3′链为模板的新生链虽也是按 5′→3′方向合成，但相反于复制叉的前进方向，是先经冈崎片段合成阶段，然后由 DNA 连接酶把很多不连续的 DNA 片段连接起来成为一股成熟的互补链。由于这股链合成的开始和完成时间较晚，故称为后随链（lagging strand），而在后随链合成过程中的那些小片段特称为冈崎片段（Okazaki fragment）（图 14－9）。

在复制过程中出现冈崎片段的情形，还可从 DNA 连接酶的突变株中有冈崎片段积累而得到进一步证实。此外在噬菌体 T_7 DNA 复制中间物的电镜照片中也可观察到复制叉的一边是双链、一边是单链或一段很短的双链的现象。这些也都表明 DNA 复制的半不连续性，且进一步研究还证明这种前导链的连续复制和后随链的不连续复制具有普遍性。现在已知原核生物的冈崎片段一般长些，约为 1000～2000 个核苷酸；而真核生物中的要短些，为 100～200 核苷酸的 4S 片段。

5. RNA 引物与 DNA 复制起始

所有的 DNA 聚合酶都必须以带游离 3′羟基的多核苷酸为引物（primer），才能催化单核苷酸加到 3′羟基上，否则 DNA 聚合酶便无法催化核苷酸聚合。

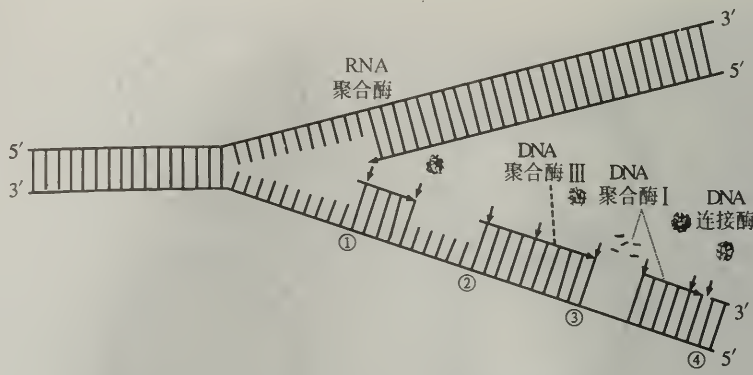


图 14－9　复制叉处的不连续复制

①合成 RNA 引物序列。在复制叉处经引发酶作用引物通过氢键与模板链结合；②一旦引发，便在 DNA 聚合酶Ⅲ的催化下，DNA 单体加接到 RNA 引物上，继续进行新链的合成；③在 DNA 聚合酶Ⅰ的外切酶作用催化下，RNA 引物被消化，以之此酶以脱氧核糖核苷酸填补空缺；④当冈崎片段完全转变为 DNA 时，DNA 连接酶便将新片段的 3′末端连接到先合成片段的 5′末端上，从而封闭缺口，形成了连续的新 DNA 链。成对的箭头标示 RNA 引物的范围。

DNA 复制过程中需要合成 RNA 引物，这是合成 DNA 的普遍规律。RNA 引物是一段长约 10 个核苷酸的片段，它是在一种依赖 DNA 的 RNA 聚合酶的催化下合成的，每个细胞中约含 50～100 个分子。这种酶不同于一般的 RNA 聚合酶，特称为引发酶(primase)。引发酶对 DNA 模板链上的某种信号有识别作用，从而与之结合，催化 RNA 的合成。RNA 引物的合成过程称为引发，引发是一个十分复杂的过程(见彩图 14－10)。

根据对大肠杆菌的几种噬菌体如 M13、G4、ϕX174 以及大肠杆菌的研究表明，引发酶不是单独起作用，而需要与多种蛋白质和酶协同作用。有多种蛋白质和酶组装成的结构称为引发体(primosome)。一般在 DNA 复制过程中，对于先导链来说，只要有一股 RNA 引物，DNA 聚合酶就能以此为起点一直合成下去，因而引发过程较为简单。在后随链上，引发体则可随复制的前移而前进，并在模板链上按不同间隔，反复合成短链的 RNA 引物，再由 DNA 聚合酶Ⅲ催化合成 DNA 片段。RNA 引物以后被 DNA 聚合酶Ⅰ切去，同时在此酶的催化下，以前一段 DNA 为引子，以 DNA 亲链为模板，一个个更替为互补的脱氧核糖苷酸，并经由连接酶催化使切口封闭。

6. 复制体

在 DNA 复制过程中，许多 DNA 复制蛋白是装配成一定的结构来发挥作用的。20 世纪 70 年代末，A. Kornberg 提出了复制体(replisome)的概念，认为复制时，在复制叉处，DNA 聚合酶Ⅲ全酶二体、引发体和解螺旋酶等共同构成了一个不对称的二聚体，称为复制体，负责前导链和后随链的复制体的协同复制(文后彩图 14-10)。Kornberg 还提出鲍环模型的设想来说明复制体的作用机制。即在复制叉处后随链模板绕聚合酶形成一个 180°的折返环，从而使两条模板链在此处均呈 3′→5′的走向。随着后随链模板在聚合酶中穿行，DNA 聚合酶便以 RNA 引物为引子合成冈崎片段。当合成这个子链到达前一个冈崎片段的 5′末端时，后随链模板就脱离 DNA 聚合酶，鲍环解开。与此同时，前移了的复制体中的引发酶又加工转录了一段新的 RNA 引物，后随链模板又绕 DNA 聚合酶形成新的　环，再次进行下一段冈崎片段的合成。由此，复制体中的 DNA 聚合酶二体虽同时合成两条子链，但是后随链

总是迟延了一个冈崎片段。

上述的迴环模型得到了一些实验的证明，如已知 DNA 聚合酶和引发的模板结合所形成的起始复合物具有 ATP 酶活性，每形成一个起始复合物需水解 2 个 ATP 分子，这一数值恰好和 ATP 全酶复合物中的 ATP 分子数相等。另外，起始复合物含有 2 个 β 亚基单体，表明在起始复合物中含有 2 个全酶分子。还有实验证明，在快速生长的大肠杆菌细胞中，在亲代染色体复制完成之前又起始新的一轮复制，结果存在 6 个复制叉。按复制叉处两股模板链各结合 1 个酶分子，则一个细胞中应有 12 个 DNA 聚合酶Ⅲ的全酶分子在同时作用。经直接测定表明，每个细胞中有 10～20 个

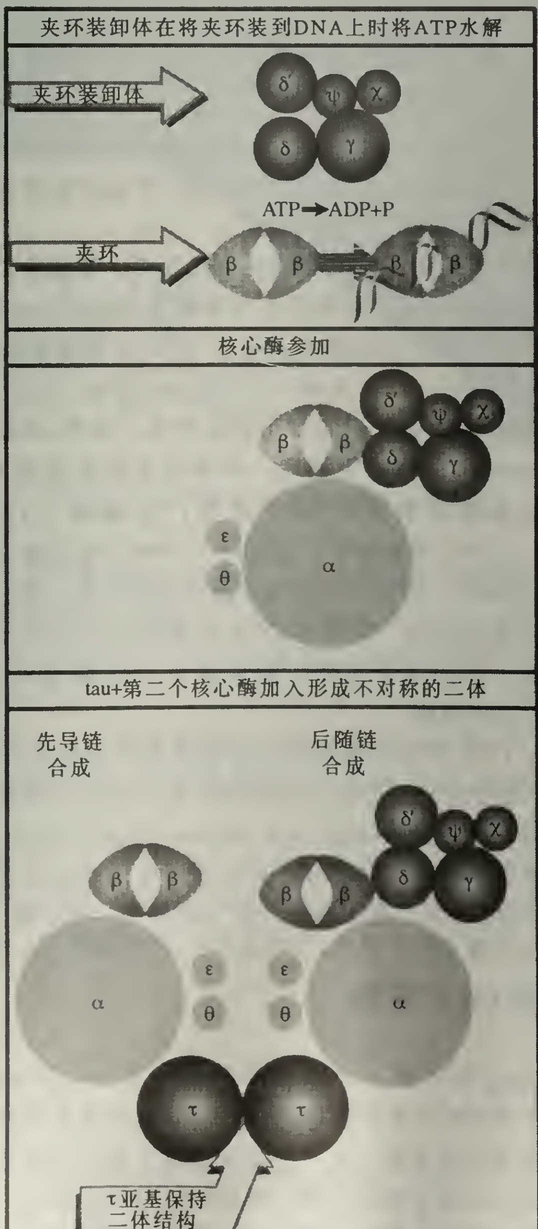


图 14－11　DNA 聚合酶Ⅲ全酶在复制叉处的装配过程示意图

核心酶与其他蛋白质亚基装配成多亚基酶复合物，负责合成两股 DNA 新链

DNA 聚合酶Ⅲ全酶分子，此数值与 6 个复制叉处结合的全酶分子数一致。近来，更有其他的实验也证明在复制叉处 DNA 聚合酶Ⅲ全酶是以二体存在，催化先导链和后随链同时复制。

7. DNA 复制的滑动夹环机制

前面提到，DNA 聚合酶Ⅲ核心酶含有 α、ε 和 θ 亚基，α 亚基是 DNA 合成的主要成分，ε 亚基具有 3′→5′外切酶活性，可校对合成的序列，θ 亚基与核心酶的装配有关。虽然，在 DNA 合成中，聚合酶Ⅲ起主要的作用，但核心酶本身单独活动的持续性(processivity)很差，一般只合成 10 来个碱基，就要离开模板，不能连续合成较长的核苷酸链。

核心酶加上 τ 亚基可引起核心酶二聚化，再加上 γ 复合物(由 γ、δ 等几个亚基组成)和 β 亚基，即形成全酶(holoenzyme)。在复制叉处，全酶构成不对称的二聚体(一边结合有 γ 复合物)，参加了复制体的组成。复制体中每个全酶各含有 1 个核心酶，1 个 τ 亚基和 2 个 β 亚基。其中 β 亚基对聚合酶Ⅲ持续合成长的核苷酸链负有重要的作用(图 14－11)。

根据用 X 线晶体分析技术对 β 复合物的研究表明，它是由 2 个 β 亚基组成的环形结构，称为夹环(clamp)。γ 复合物起夹环装卸器(clamp loader)的作用，在 DNA 复制时，装卸器利用水解 ATP 的能量促使夹环与 DNA 双螺旋结合，DNA 双螺旋从夹环中央穿过(文后彩图 14-12)。夹环一旦与 DNA 结合，由于夹环是一个封闭的环，故可很稳定地套住 DNA 链，但它却可像玉手镯一样沿 DNA 双螺旋滑动，故称为滑动夹环(sliding clamp)，简称为滑环。滑环的功能是增强 DNA 聚合酶Ⅲ合成 DNA 的持续性和提高聚合酶复制 DNA 速率(750 碱基/s)，故又称持续因子(processivity factor)。在后行链复制中，直到一个冈崎片段合成完毕，滑环才离开核心酶，释放出 DNA 双螺旋。当下一个冈崎片段开始复制时，核心酶再度重新与滑环结合，促进下一个片段的合成。滑环与 DNA 双螺旋的结合和分离，均与装卸器(γ 复合物)的存在有关。有的学者主张，滑环将与 DNA 结合时，滑环开口，形成“C”字形，套进 DNA 双螺旋。

在真核生物中，DNA 复制时亦存在着这种滑动夹环机制。真核生物的复制酶——聚合酶 δ 和 ε，也含有持续因子。因沿袭原有的命名，构成真核生物滑环的蛋白质称为增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)。PCNA 构成的滑环，在结构和功能上与原核生物中的 β 滑环类似。经 X 线晶体分析表明，两类生物的滑环所不同的是：PCNA 为三聚体滑环，而 β 滑环为二聚体环。

二、真核生物的 DNA 复制

真核生物和原核生物一样，也是按半保留的方式进行 DNA 复制。1957 年 J. H. Tayler 曾用放射自显影方法对蚕豆(*Vicia faba*)根尖细胞分裂过程中的染色体复制做过研究，证实为半保留复制方式。他是先把蚕豆根尖细胞放在含有放射性的胸腺嘧啶核苷的培养液中培养至细胞分裂，然后再把细胞转移到无放射性的培养基中培养并再分裂一次。结果发现染色质线复制后每一条都是由一股有放射性的亲链和一股新合成的无放射性的子链组成。但由于真核生物基因组要比原核生物的大得多，其 DNA 还和 5 种组蛋白一起构成核小体，以染色质形式存在于细胞核中，因此

真核生物 DNA 的复制过程远较原核生物复杂。

(一)多点复制与复制子

在电镜下可以看出，真核生物 DNA 复制与原核生物一样，都是双向复制，但复制点是多个而不是一个(图 14－13)。每一个复制区称为复制子(replicon)。当所有的

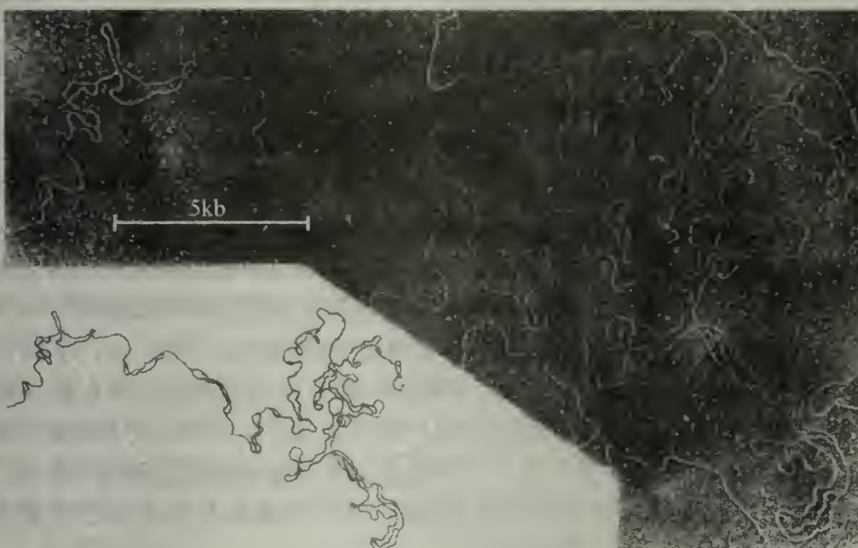


图 14－13　果蝇 DNA 复制活动的电镜照片

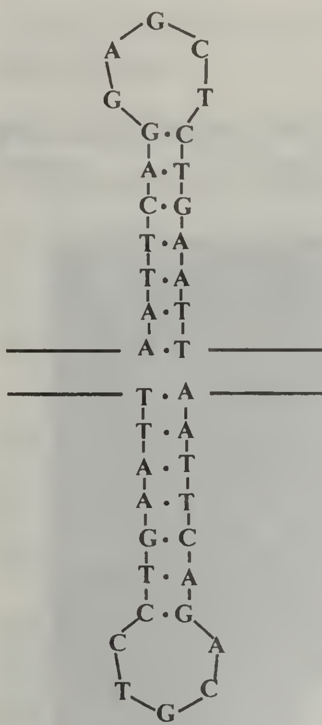
复制子都复制完毕，则两条完整的子代 DNA 分子即复制完成(图 14－14)。

复制子的大小各不相同，在哺乳动物中平均约 30μm 长，而酵母的则为 3～80μm 长。各种生物 DNA 的复制速度不同，酵母复制叉的前移速度约 0.7μm/min，哺乳类则为 0.1～2.0μm/min，后者相当于每分钟复制 1×10^3～5×10^3 个核苷酸。真核生物 DNA 的多点复制有助于加速复制速度，以果蝇染色体 DNA 为例，若从一点开始复制，需要 16 天才能完成复制，但因其复制点可多达 10 000，故实际上只用 3 分钟即全部复制完成。

复制子只有起始点，没有终止点。在 DNA 复制时，所有的起始点都大体同时起步。复制是双向进行的，当相邻复制子复制汇合时，则完成复制。复制子起始点常具有共同的专一核苷酸序列。根据病毒的实验表明，起始点含有碱基逆向重复序列或迴文(palindrome)结构：

-A-A-T-T-C-A-G-G-A-G-C-T-C-T-G-A-A-T-T-
-T-T-A-A-G-T-C-C-T-C-G-A-G-A-C-T-T-A-A-

蚴文结构的链内存在互补碱基序列，故可通过碱基配对形成 1 或 2 个发夹环：发夹形环是 DNA 双螺旋结构的不连续区，它可以为蛋白质所识别。发夹形环可作为 RNA 或 DNA 引物的模板和核酸酶的切割部位，以及解旋蛋白的作用部位。



(二)真核生物的 DNA 聚合酶

真核生物的 DNA 聚合酶与原核生物的类似，也只能把核苷酸加到多核苷酸链的 3′-OH 基上。因此，真核生物 DNA 复制的方式与原核生物的类似。

现在已知的真核生物 DNA 聚合酶有 5 种，即 α、β、γ、δ、和 ε，其中 α、β、δ 和 ε 4 种酶都位于细胞核中，γ 则位于线粒体内（表 14-1）。DNA 聚合酶 α 在细胞内的变化同 DNA 复制有明显的平行关系，当分裂细胞处于 S 期时达到高峰，看来在细胞内 DNA 的复制中有着关键作用，是主要的复制酶。DNA 聚合酶 α 由 4 个亚基组成，其中 *Mr* 为 16×10^4 ~ 18×10^4 的一个亚基具有 DNA 聚合酶的活力；另一条 *Mr* 为 7×10^4 的多肽是个磷酸化的蛋白，它可能在催化亚基与引发酶之间起连接作用；另两条多肽的分子质量分别是

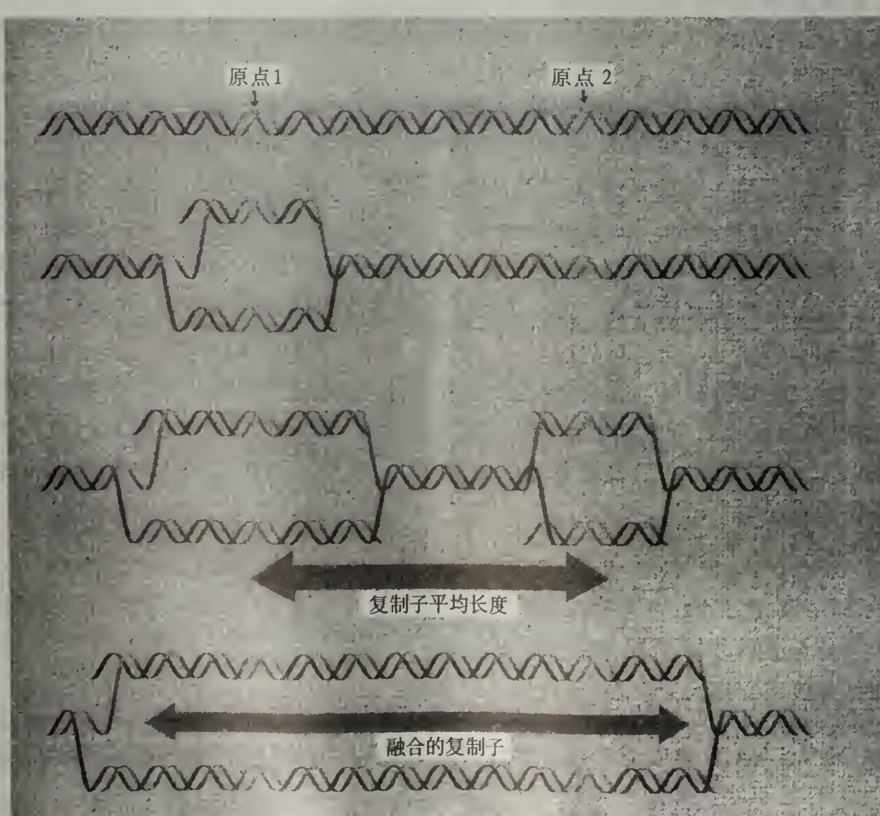


图 14 - 14　真核生物 DNA 的双向复制

表 14－1　真核生物 5 种 DNA 聚合酶的不同特点

DNA 聚合酶	α	β	γ	δ	ε
位置	核内	核内	线粒体	核内	核内
合成功能	引发	修复	复制	新生链延长	修复
其他功能			3′→5′外切酶活性	3′→5′外切酶活性	3′→5′外切酶活性
抑制剂	四环双萜（aphidocolin）	dideoxy-TTP	dideoxy-TTP	四环双萜	四环双萜

$5.5\times10^4\sim6\times10^4$ 和 $4.8\times10^4\sim5\times10^4$，具有引发酶活性。由于 DNA 聚合酶 α 与 DNA 引发酶紧密结合，以致在用 DNA 聚合酶 α 的抗体进行亲和层析时，这个紧密的复合物也常一同被吸附。δ 也是细胞内主要的 DNA 复制酶。从小牛胸腺纯化的 δ，Mr 为 17.3×10^4，由 2 条肽链组成，其催化亚基分子量为 12.5×10^4，另一条 Mr 为 4.8×10^4 亚基的功能还不清楚。以后发现 DNA 聚合酶 δ 不但有聚合活性，而且还有 3′→5′外切酶活性，因而有切除错配核苷酸的校正作用。DNA 聚合酶 δ 催化 DNA 合成的进行性比 α 大得多，且不与引发酶活性相连。近年来根据一些实验的观察比较，看来 DNA 聚合酶 α 的作用在于起始新链合成，而 DNA 聚合酶 δ 的作用则是使两股新链继续延伸。因此，有关真核生物复制体的模型认为，在一个复制叉上既包含着 1 个 DNA 聚合酶 α 与引发酶的复合物，又包含着 2 个 DNA 聚合酶 δ 的复合物，这两个 DNA 聚合酶 δ 复合物以大肠杆菌复制体中 DNA 聚合酶Ⅲ的相同方式运转，一个合成先导链，另一个合成后随链上的冈崎片段。

DNA 聚合酶 β 在细胞周期中的变化不大，酶活性水平稳定，可能与 DNA 损伤的修复有关。DNA 聚合酶 γ 主要参与线粒体 DNA 复制，但高纯度的 DNA 聚合酶 γ 含有 3′→5′外切酶活性，具有很高的复制精确性。

ε 是 20 世纪 80 年代末期才确定下来的一种 DNA 聚合酶，它也具有 3′→5′外切酶活性。一些实验证明它既可能在 DNA 损伤修复中发挥作用，又是染色体 DNA 复制所必需的。该酶的结构尚未完全确定。

(三)DNA 复制与核小体

真核生物的染色质具有核小体结构，在 DNA 复制时，复制区的 DNA 链暂时与组蛋白分开，复制后的子链再重新构成核小体。一般，在生理条件下，染色质不会自我装配，因为组蛋白和 DNA 之间有着极强的相互作用力，因此需要一种作用机制来减缓这种作用过程，以控制染色质适当装配。在染色质的装配过程中有几种非组蛋白参加。如从爪蟾卵分离提取的核质蛋白(nucleoplasmin)和 N_1 蛋白，前者可与 H_2A 和 H_2B 结合，后者可与 H_3 和 H_4 结合，其功能是作为“分子伴侣(molecular chaperone)”催化库中的组蛋白加到 DNA 上。由于核质蛋白和 N_1 蛋白都是酸性蛋白，与组蛋白结合后减少了组蛋白的正电荷，这样便可使组蛋白在可控状态下与 DNA 结合。另外，组蛋白的化学修饰也是影响染色质装配的必要因素，如组蛋白中赖氨酸氨基的乙酰化和甲基化，组氨酸和精氨酸的甲基化等，可中和 NH_3^+ 的正电荷；又如组氨酸和丝氨酸的羟基可发生磷酸化，使磷酸基上带有负电荷。

伴随着 DNA 的复制，还需要添加新的组蛋白来同原有的组蛋白一起与子代 DNA 链结合，装配成新的核小体，进而组成染色单体，所以在细胞核中组蛋白的合成是与

DNA 复制同步进行的。新、旧组蛋白在子代染色单体中是如何分配的呢?核小体的核心组蛋白八聚体为对称排列,可均分为两个 H_2A · H_2B · H_3 · H_4 异四聚体,这种被分成两半的核小体,称为半核小体(half-nucleosome)。这种半核小体可能是染色质复制的中间体,再加上另一组组蛋白(H_2A · H_2B · H_3 · H_4)就构成了完整的核小体。

在核小体的组构方面,从亲代 DNA 链上解开的组蛋白八聚体是以全保留方式与 DNA 子链结合,还是要先经解聚再与新合成的组蛋白重装配,然后与子链组装成核小体,对此目前尚无定论。

(四)核基质在 DNA 复制中的作用

核基质在 DNA 复制过程中起着重要的作用。当用放射性 DNA 前体物(^3H – 胸腺嘧啶核苷)对细胞作脉冲标记 1 分钟后,观察到有 80% 以上的标记物是出现在和核基质相结合的 DNA 上。这说明 DNA 复制装置是与核基质紧密结合的,而且 DNA 的合成首先是发生在由中心支架伸出的 DNA 环基部,而支架就是由非组蛋白组成的核基质。进一步的研究更证明,DNA 复制起始点是结合在核基质上。近年,利用生化和电镜技术对核基质与染色质关系的研究,提出了染色质的 DNA 袢环模型,认为染色质 DNA 是以袢环的形式结合在核基质上的。自 20 世纪 80 年代中期以来,人们陆续从不同基因中找到了 DNA 与核基质结合的专一序列,并称为核基质结合区(Matrix associated regoins, MAR)。它们存在于酵母、果蝇、鸡和哺乳动物的不同类型细胞中,甚至在植物中也有报道。这类序列大多富含 AT 对,这一特点可能是使 MAR 形成一种能与蛋白质作用的特殊结构,以调节 DNA 复制。另外,通过对果蝇组蛋白基因组、二氢叶酸还原酶基因、hsp70 热休克基因、鼠的免疫球蛋白 κ 轻链基因等的 MAR 的研究,发现它们具有一个共同特点,即含有拓扑异物酶Ⅱ(topoisomerase Ⅱ)的酶切位点。拓扑异构酶Ⅱ能解开 DNA 超螺旋,使 DNA 折叠和去折叠,是一种与 DNA 拓扑结构有关的酶类。利用该酶的专一抑制剂 VM26,可以阻止 MAR 同核基质的体外结合,这一现象说明 DNA 拓扑异构酶Ⅱ在 MAR 与核基质结合中起重要作用。至于 MAR 与核基质的结合,根据在不同条件下对分步提取核基质上结合的 DNA 片段的研究,有人从二者结合的紧密程度,指出可能有两类 DNA – 核基质结合位点:一是 MAR 通过氢键、离子键以及疏水键与核基质松散地结合,在这种情况下,核基质是位于双螺旋的外侧;另一类结合位点则属于紧密结合,即除了单纯的化学键外,DNA 与核基质主要是通过拓扑作用结合在一起,核基质蛋白从局部变性区穿过 DNA 链。看来,这种紧密结合位点多在染色质环袢的基部,而松散结合位点则形成袢环的次级结构(图 14 – 15)。

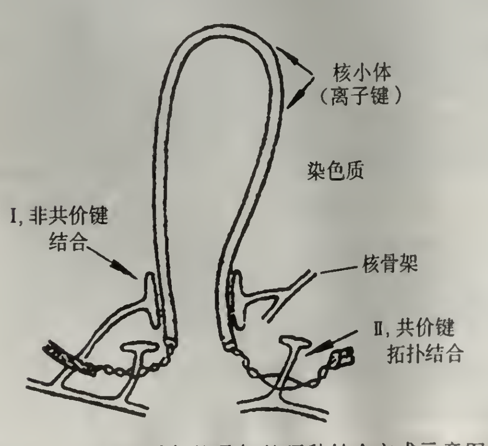


图 14– 15　染色质与核骨架的两种结合方式示意图

(五)端粒的复制

端粒是真核细胞内染色体末端的 DNA 重复序列,其 DNA 复制过程有着不同于常规 DNA 复制的行为,从而保证了在 DNA 半保留复制之后,5′RNA 引物虽被 DNA 酶切去却不会导致整个染色体 DNA 末端出现缩短的后果。在真核细胞分裂中维持端粒长度平衡使

端粒 DNA 不致随复制而递减的最关键角色之一便是端粒酶。

端粒酶(telomerase)是 1986 年由 E. H. Blackburn. 等人在研究四膜虫(*Tetrahymena*)端粒复制时发现的。他们利用四膜虫的无细胞抽提物在体外进行了端粒延长的实验。这就是以四膜虫染色体末端重复序列 GGGTTG 为引物,加入放射性核素标记的 dGTP 和 dTTP,发现四膜虫的抽提物能使引物向前延伸上百个核苷酸,而且这种延长的方向是由 5′到 3′,并以 GGGTTG 这 6 个核苷酸为 1 个单位重复延伸。如果上述实验中的引物是 PBR_{322} 质粒或是其他片段,则不能使端粒的 DNA 链伸长;如果把反应基质加热至 90℃或用蛋白酶处理,即失去活性。后来在体内的实验也得到相同的结果。此后,他们又进一步对四膜虫的端粒酶蛋白进行了分离纯化,证明端粒酶是一种核糖核酸 - 蛋白质复合物,其中的 RNA 组分长约 150 核苷酸,含有一段 5′ - ACCCCAAC - 3′序列,能与端粒 DNA 中的 GGGTTG 互补,是端粒酶的活性位点,起着合成端粒的模板作用。端粒酶的蛋白质组分具有反转录酶活性,可以其端粒酶中的 RNA 序列为模板合成端粒 DNA。因此,端粒酶又是真核生物 DNA 合成中的一种专一性的反转录酶。端粒酶以其所含的 RNA 为模板,以端粒 DNA G + T 链的 3′— OH 为引物,合成 TTGGGG 重复序列。此后,又陆续发现其他真核生物细胞端粒中也存在端粒酶的报道。1995 年 V. Brayant 等曾报道人的端粒酶中 RNA 模板区包括 11 个核苷酸(5′ - GUAACCCUAAC - 3′),与人的端粒重复序列(GGGTTA)n 互补。在起始合成时,端粒 RNA 的 3′ - AAC - 5′与端粒 DNA 的 3′末端—TTG—OH 序列互补结合,酶以 5′→3′的方向催化合成 GGGTTG 序列。端粒酶的催化作用是不连续前进的,每合成完一个重复单元序列之后,再前移一个单元,合成另一个单元的 DNA 序列。如此重复循环多次,合成若干个重复单元序列(图 14 - 16)。

端粒酶活性最先是在四膜虫等纤毛原生动物的大核中发现的,以后在各种动植物细胞中也检测到。相关的这些实验都显示出端粒长度的变化与端粒酶的活性密切相关,而细胞的寿命又与端粒的长短有关。如小鼠和人类生殖细胞的端粒长度为 15kb 上下,且此长度稳定并不随细胞分裂次数的增加而缩短,在这些生殖细胞中也能测到端粒酶的存在。但是,在体细胞中,端粒随着细胞的每次分裂而缩短,导致细胞衰老。在这些细胞内一般也都测不到端粒酶的活性,说明在成体体细胞中端粒酶基因不表达。根据以上的事实,人们指出端粒的缩短是正常细胞复制老化的有丝分裂钟,当端粒长度递减到一个临界点时,就不能再进入细胞分裂周期,停止繁殖并趋向病态,终至死亡。基于端粒酶与复制老化、细胞增生有密切的关联,在端粒酶发现后的 10 余年中,有关的研究进展迅速,尽管对于端粒酶如何调节端粒长度,有哪些因素来调节端粒酶活性等基础理论问题还有待于深入探索,但端粒、端粒酶及其抑制的研究都已逐渐被用于对恶性肿瘤的诊治及对老年病因的探讨。Wilmutt 用成体羊体细胞核制出的克隆羊"Dolly",经分析其端粒长度就比同龄羊短了 20%。据认为 Dolly 的早衰可能与此有关。

至此,我们可把 DNA 复制过程概括为以下几点:

(1)复制是按半保留复制过程进行的。

(2)复制是单向或双向的,通常是双向复制。

(3)复制由专一点开始,DNA 分子的复制起始点可以是 1 个,也可以是多个。

(4)复制的双链均以 5′→3′的方向添加核苷酸单体。

(5)复制是半不连续性的,其中 1 股链(后随链)为不连续复制,是先合成短的片段,然后再连接成 DNA 分子整体。

(6)后随链各片段开始复制时都要先合成一小段 RNA,作为启动 DNA 聚合酶作

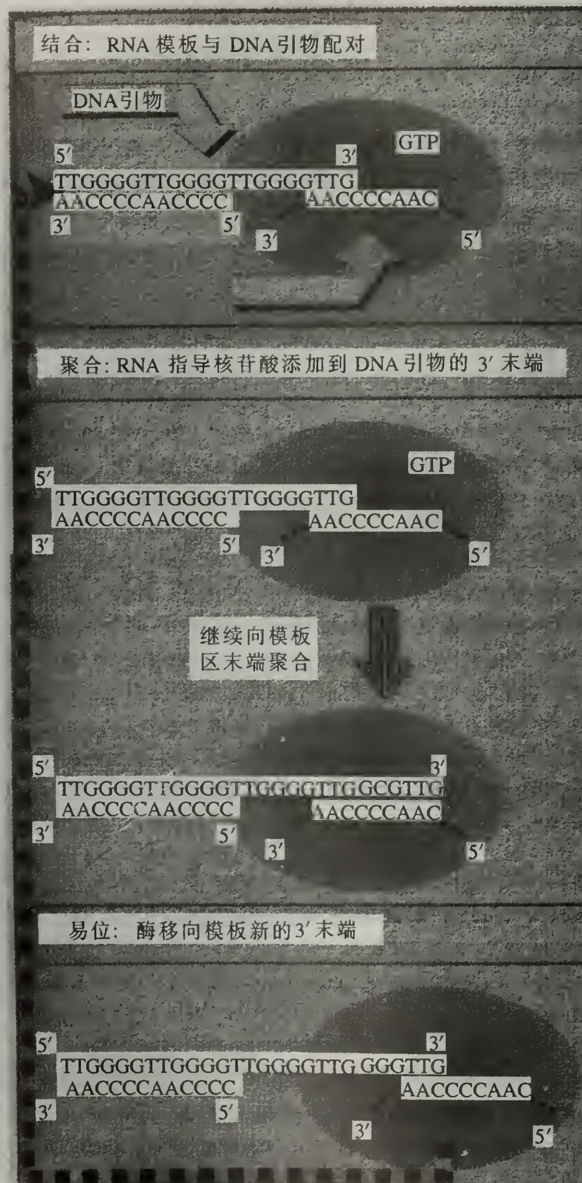


图 14－16　四膜虫端粒的复制

各种真核生物的染色体末端含有G丰富的重复序列，构成端粒。在复制叉后随链一侧合成的新链不完整，端粒酶中的RNA为合成G丰富序列提供模板，由DNA聚合酶α(自身带有引发酶)将后随链合成完成。不同生物端粒中的G丰富序列不同，四膜虫(Tetrahymena)的为GGGTTG；人的为GGGTTA；酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)为 $G_{1-3}A$

用的引物，引导合成多脱氧核苷酸链。

三、DNA复制的其他类型

前述所介绍的DNA复制方式是原核细胞和真核细胞中的基本复制类型，在复制过程中均从1个或几个复制点以相反方向形成复制叉。但这种复制类型并不是唯一的，除此之外，噬菌体和线粒体DNA中还发现了另外的两种复制方式。

(一)滚环复制(rolling-circle replication)

这种复制方式存在于噬菌体(如 ΦX174)、线粒体与叶绿体、细菌质粒以及两栖类卵母细胞核糖体基因扩增等的 DNA 复制中。

现以 ΦX174 噬菌体为例说明滚环复制过程。ΦX174 的 DNA 为环形单链，称为正链，侵入细菌进行复制时，需先合成一条互补的负链。首先 ΦX174 的 DNA(+)由单链结合蛋白(SSB)包裹，才能在特异位点复制，由引物 RNA 合成转向 DNA 合成。复制起始点在 2031~2355 核苷酸之间，形成一发卡结构，在此处合成 RNA 引物，DNA 聚合酶Ⅲ便利用引物 RNA 的 3′末端作为起点进行 DNA 合成，并经连接酶把此 DNA 上的 3，5－磷酸二酯键连接起来成为负链，与正链配成环状的双螺旋链 DNA，即为复制型(RF)，是复制的中间体。负链的合成相当双股 DNA 合成的后随链。随后，有一种限制性内切酶将双链 DNA 中的正链切开一缺口，以负链为模板起始复制。缺口处暴露出的 5′末端固定在细胞膜上，其 3′－OH 端便是 DNA 聚合酶Ⅲ的工作起点，被不断地加添上核苷酸而延长，合成子代的正链(图 14－17)。子代正链的合成相当于双股链 DNA 的先导链，5′末端链则伸长成一条尾。随后，在 DNA 酶的催化下，以 5′末端尾为模板，合成互补的 DNA 链，从而使尾巴变成了 DNA 双螺旋。这些新的子链(+)可被病毒衣壳蛋白包装构成新的病毒颗粒，或成为模板合成负链组成新的双股 DNA 的 RF，继续下一轮滚环复制。

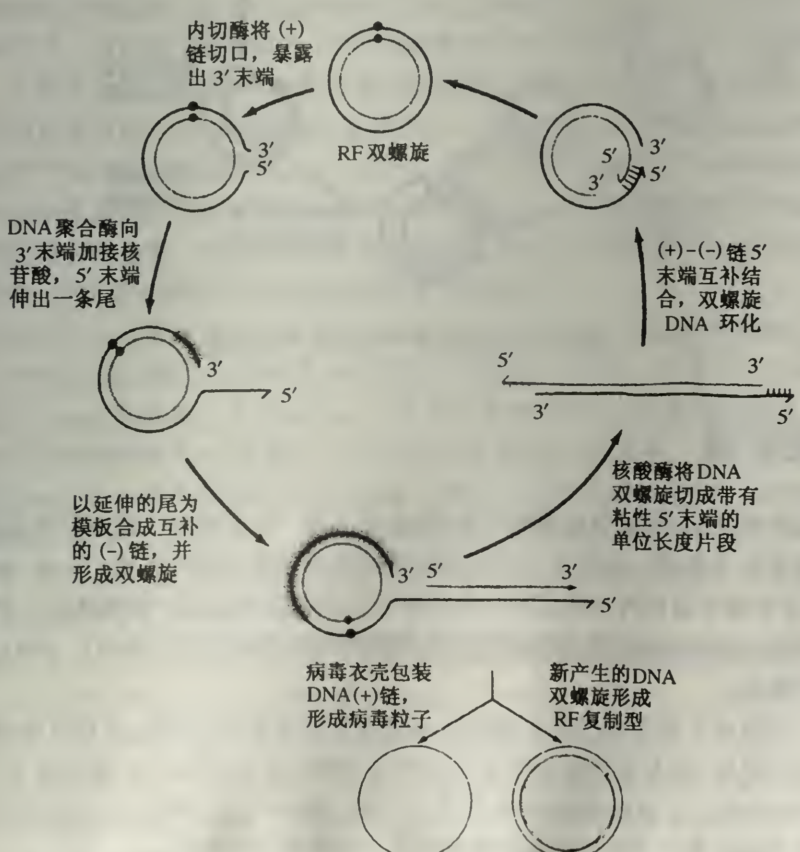


图 14－17 ΦX174 滚环复制的模式

与其他复制方式相比，滚环复制是一种快速复制方式，随着复制的进行，先导链延伸出的 5′端尾部变成了后随链合成的亲代模板链，可迅速增加 DNA 分子的数量。

(二)D 环式复制

在线粒体和叶绿体 DNA 中除发现 θ 型和滚环式复制外，1977 年 Jerome Vinograd 等还发现了 D 环复制(D-loop replication)。最典型的 D 环式复制是哺乳动物线粒体 DNA 的复制。双螺旋的两条链并不同时复制，是轻链先开始复制，稍后重链才起始复制。当以轻链为模板复制开始时，重链上产生了 D 形环，随着环形轻链复制的进行，D 环按 5′→3′的方向逐渐增大，待露出重链的复制起点时，重链开始复制，复制以 5′→3′方向进行。最后，两条亲链各自完成复制，由 DNA 连接酶封闭成封闭的双链环，并由拓扑异构酶转变为超螺旋形式，形成两个新的、完全一样的 DNA 双螺旋子代分子(图 14 - 18)。

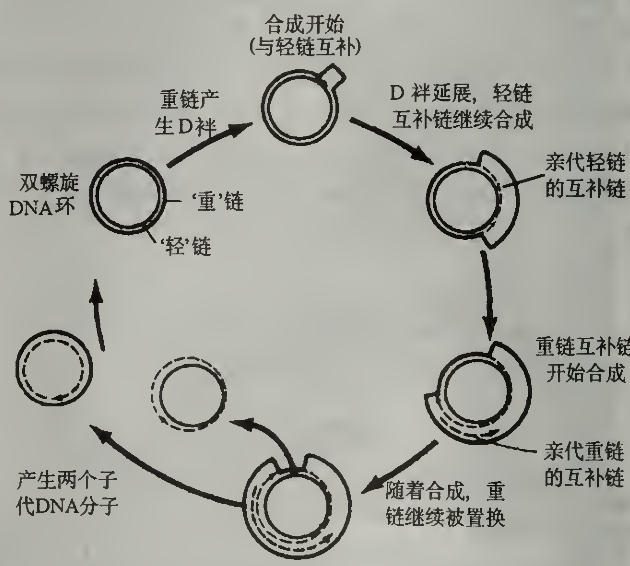


图 14 - 18　线粒体 DNA 的 D 环式复制

四、基因扩增

在某些情况下，真核细胞基因组内 DNA 分子的一定序列专一性地反复进行复制，而其他部分并不复制，这种专一序列单独复制的现象称为基因扩增（gene amplification)，它是细胞在短期内为满足发育或生理适应所需要的基因产物数量的一种调控手段。对基因扩增现象研究得比较清楚的是两栖类卵母细胞发育中的核仁 rRNA 和昆虫的多线染色体。

爪蟾细胞每个核平均只有 2 个核仁，rDNA 约有 900 套，可是，其卵母细胞在成熟过程中的双线期，核仁数增加了千余倍 (600 ~ 1600 个)，含有 rDNA 基因达 200 万套，以致 rDNA 序列占了卵母细胞 DNA 总量的 75% (表 14 - 2)，显然，这与卵母细胞成长中需要合成大量蛋白质以满足它在受精后发育的需要密切相关。

表 14-2 爪蟾（*Xenopus Laevis*）的体细胞和基因扩增后卵母细胞 rDNA 的变化（自 1974 J. B. Gurdon）

细胞类型	核 DNA(pg)	每一核中染色体套数	染色体 DNA (pg/核)	核糖体 DNA (pg/核)	rDNA 数	核仁数
体细胞	6	2	6	0.012	900	2
卵母细胞（扩增后）	37	4	12	25	2 000 000	1 000～1 500

双翅目昆虫的多线染色体中就有基因扩增现象。多线染色体上的某些蓬突（puff）可比其他部分发生更多次复制。Spradling 等(1980)发现,果蝇卵中的卵壳蛋白基因比其他体细胞中的放大了 10 倍,卵壳蛋白是形成卵壳的基本成分。

在哺乳动物中，如小鼠和人类肿瘤中出现的双微小体(double minute，简称"dm")，已被证明(Kaufman et al. 1979)是一种基因扩增现象，与肿瘤抗药性有关。双微小体是中期细胞染色体外成对存在的含 DNA 的小圆球体，在不同细胞中数目不等，可从 0 到数百个。

基因扩增现象是细胞发育到特定阶段的需要，扩增的基因序列不传递到下一代细胞。卵母细胞中扩增的 DNA 不传给胚胎，含多线染色体的唾腺细胞在变态过程中死亡。

第三节 转录——基因表达的核心步骤

细胞要不断的进行新陈代谢和物质更新,而表现出生命现象和生命活动的物质基础是蛋白质，因此在细胞内利用 20 种氨基酸进行蛋白质合成就成了生命现象的主要内容。从前述介绍已知 DNA 序列是遗传信息的贮存者,它通过复制得到永存,同时它还能把信息传递给以本身为模板合成的 RNA，进而将 mRNA 携带的信息转变成特定的蛋白质产物来控制生命现象。由 mRNA 上特定的核苷酸序列所携带的遗传信息转化成特定的氨基酸序列的过程称为翻译(translation)。这样,复制、转录和翻译便构成一整套信息传递过程,而基因表达就是遗传信息通过转录和翻译产生特定的 RNA、蛋白质和酶,从而使细胞和个体的表型得以发生的过程。

1958 年 Crick 提出的中心法则（central dogma）认为，信息流的传递方向只能由 DNA→RNA→蛋白质，传递顺序是单向而不可逆的。但是，到 1970 年 D. Baltimore 和 H. M. Temin 等发现，在 Rauscher 小鼠的白血病和 Rous 家禽内瘤病毒(Rous fowl sarcoma)这两种致癌 RNA 病毒中，有依赖 RNA 的 DNA 聚合酶，即反转录酶(reverse transcriptase)。一旦病毒感染寄主细胞后，就可在反转录酶作用下，以病毒 RNA 分子为模板，转录出单链 DNA，然后此单链 DNA 再复制为双链(图 14-19)。于是，Crick 于 1970 年又将其中心法则作了修正注释，把反转录看作是在一定条件下的特例,是在病毒感染下才出现的现象。

随后不久，有的学者发现，在未受病毒感染的大鼠胚胎细胞和非洲爪蟾的基因扩增中,也有依赖 RNA 的 DNA 酶存在(Fieg and Brachet 1971)。以后,从许多高等真核生物的 RNA 肿瘤病毒中也分离到这种反转录酶。此外,大多数 RNA 病毒,如脊髓灰质炎、流感病毒,只含有单链 RNA(+链)。进入宿主细胞后病毒 RNA 就可作为模板利用宿主细胞的酶先指导合成互补的 RNA 链(-链),并用此负链来复制增殖正链。正链或用作新生病毒的 RNA，或是作为 mRNA 以翻译病毒外壳蛋白。由此可见，信息由

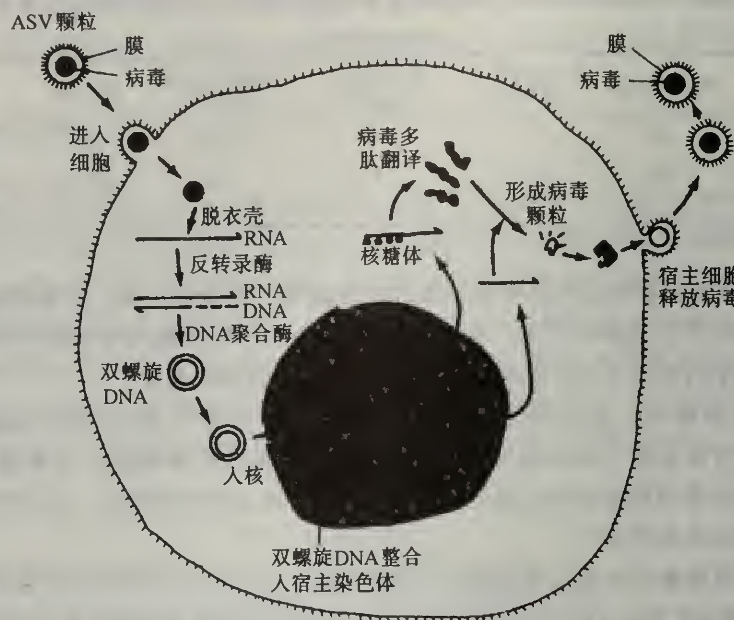
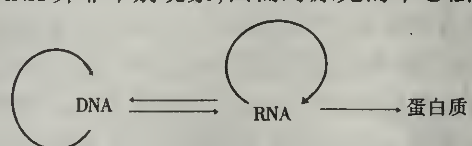


图 14－19　RNA 肿瘤病毒(鸟类肉瘤病毒)复制的基本步骤
复制中需有反转录酶的参加(自 C. J. Avers　1981)

RNA 转向 DNA 或 RNA 并非个别现象,因而对原先的中心法则修改如下:



由此可以看出,细胞内的遗传信息 DNA 是通过 mRNA 上的编码,在核糖体上翻译成为多肽链。这样,遗传信息的传递可分为两步:第一步是转录,第二步是翻译。在真核生物中,转录是在核内进行,翻译是在细胞质内进行的。原核生物由于没有真正的细胞核,所以两步紧密相连,甚至转录与翻译同时进行。

DNA 以本身为模板,在 RNA 聚合酶作用下,合成与 DNA 链完全相同的一条 RNA 链(除 T→U 外)的过程称为转录(transcription),这是基因表达的核心步骤。进行转录应具备四个条件:一是要有 DNA 模板;二是需有能催化单核苷酸加到生长着的 RNA 链 3′羟基端上的 RNA 聚合酶;第三是有 ATP 作为能源;最后,要有以核苷三磷酸形式存在的所有 4 种核苷酸前体。RNA 共有 3 类,即信使 RNA(mRNA)、转移 RNA(tRNA)和核糖体 RNA(rRNA)。它们的合成都需有 RNA 聚合酶参加。

一、RNA 聚合酶

RNA 聚合酶的作用是催化 RNA 的合成。它主要是以双链 DNA 的一股链为模板,如果以单链 DNA 为模板,则活性大大降低。该酶在有 4 种核苷三磷酸及辅助因子 Mg^{2+}或 Mn^{2+}的条件下,以 5′→3′的方向催化互补于 DNA 模板链的 RNA 链的起始、延伸与终止,但不需要任何引物。RNA 聚合酶没有核酸酶的活性。

在原核生物中，只有 1 种 RNA 聚合酶，负责合成所有的 mRNA、tRNA 和 rRNA。大肠杆菌的 RNA 聚合酶可能是目前研究得最为详细的聚合酶。RNA 聚合酶全酶(holoenzyme) 由 5 个亚基组成，即两条 α 链（M_r 为 4×10^4），1 条 β 链（M_r 为 1.55×10^5），1 条 β′链（M_r 约为 1.65×10^5）和 1 条 σ 链（M_r 为 $32\times10^4\sim9\times10^4$）。4 种亚基分别由 rpo A、rpo B、rpo C 和 rpo D 基因编码。全酶的 M_r 为 ~465kDa。σ 亚基的作用是负责模板链的选择和转录起始，使酶专一性识别模板上的启动子。σ 亚基和酶中其他部分结合较疏松，可以分离出来，没有 σ 亚基的 α_2 β β′称为核心酶(core enzyme)(图 14-20)。核心酶负责转录由全酶所识别的单链 DNA 模板，原核生物 RNA 聚合酶核心酶的几个亚基各具不同的作用，α 亚基常以二聚体形式存在，参与全酶同启动子的牢固结合，并与 DNA 分子链的解开和恢复有关；β 亚基对 RNA 聚合酶的功能极为重要，它参与 RNA 合成、终止信号的识别，而且与结合核苷酸底物有关，并催化磷酸二酯键的形成。β′亚基可使聚合酶结合到 DNA 模板上。σ 因子对转录启动区有识别作用，转录结束时，全酶释放出 σ 因子，而结合上 ρ 因子，终止转录。每个细胞中约有 7000 个 RNA 聚合酶。根据细胞的生长情况，任何时候都可有 2000 ~ 5000 个酶在执行转录 DNA 模板的功能。

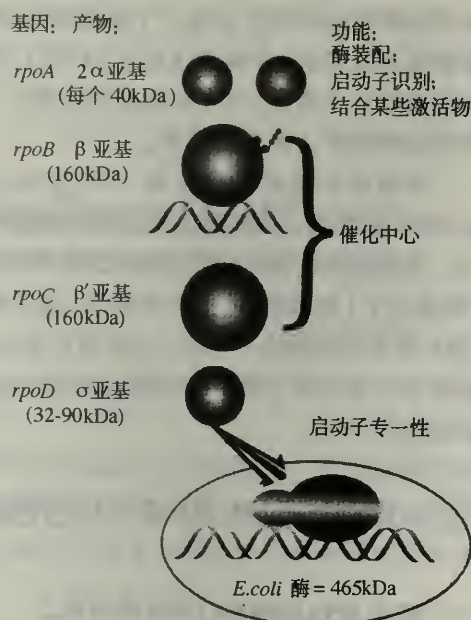


图 14-20 大肠杆菌 RNA 聚合酶的组成

聚合酶的体积很大，可以横跨 60 个碱基对，但解旋的 DNA 区域可能还不到 17 个碱基对。当双链 DNA 解旋，释放 DNA 模板时，两条 DNA 链可能进入聚合酶中的不同部位，游离的核苷酸能被聚合酶加到新生的 RNA 链的 3′端，并形成 12 个碱基对的 DNA-RNA 杂合链。随着聚合酶在模板上的运动，靠近 3′端的 DNA 不断解旋，同时在 5′端重新形成 DNA 双链，将 RNA 链不断挤出 DNA-RNA 杂合链。一般，RNA 3′端总是有 50 个左右核苷酸与 DNA 或聚合酶相结合。

真核生物中有 3 种 RNA 聚合酶，即 RNA 聚合酶 Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ，分别分布在核内的不同区域，这 3 种 RNA 聚合酶不被利福平所抑制，但对鹅膏蕈碱 (α-amanitin) 有不同程度的敏感性 (表 14-3)。真核生物 RNA 聚合酶的结构比较复杂，它们的分子量都在 5.0×10^5 左右，从已测定过的酶来看，各自约含有 10 个亚基。如酿酒酵母其聚合酶 Ⅰ 有 13 个亚基，酶Ⅱ有 10 个亚基，酶Ⅲ有 14 个亚基。在这些亚基中有 2 个 Mr 为 2.0×10^5 和 1.4×10^5 的大亚基，其余均为小亚基。

在真核生物 3 种 RNA 聚合酶中研究得较为广泛而深入的是 RNA 聚合酶Ⅱ。它的最大亚基，Mr 为 240×10^3，其羧基末端含多个 7 肽重复序列 (carboxy-terminal repeating heptamer, CT7n)，或称羧基末端结构域(carboxy-terminal domain, CTD)。7 个氨基酸的序列是：Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser。不同生物中 CTD 的重复次数不同，如在酵母中为 26 次，果蝇中为 44 次，小鼠和人中此重复达 52 次。这个序列的重复次数很重要，如果切除量超过一半时，则对细胞(酵母)有致死效应。近年，有关聚合酶Ⅱ CTD 磷酸

表 14-3　真核生物 3 种 RNA 聚合酶的性质与功能

	RNA 聚合酶Ⅰ	RNA 聚合酶Ⅱ	RNA 聚合酶Ⅲ
位置	核仁	核质	核质
产物	rRNA	mRNA 前体	tRNA、5S RNA、其他小分子 RNA
相对活性	50%～70%	20%～40%	～10%
对 α-鹅膏蕈碱敏感性	不敏感	敏感	介于聚合酶Ⅰ、Ⅱ之间
转录的基因	大多数 rRNA	所有编码蛋白质的 mRNA，一些小分子核 RNA	tRNA，5S RNA 和一些小分子 RNA

化和去磷酸化的研究有助于了解基因转录的机制。现已发现，CTD 是转录因子 TFⅡ-H 激酶亚基的底物。非磷酸化的 CTD 可以与上游调控因子的激活区相作用，形成稳定的转录起始复合物，当完成转录起始阶段后，CTD 的磷酸化又可使 RNA 聚合酶Ⅱ脱离起始复合物而转入转录的延伸。

和原核生物 RNA 聚合酶一样，真核生物的 3 种 RNA 聚合酶都是按 5′→3′方向催化 RNA 的合成，都需要不同蛋白质辅助因子的协助才能进行工作。但与原核生物相比，真核生物的 RNA 聚合酶除了种类多以外，转录时还需要有其他很大一组蛋白质（转录因子）的协助，才能开始转录；基因调节蛋白（阻遏物和激活物）可同多个分散的 DNA 调节序列结合，对同一个转录启动区进行调控。此外，在真核生物的线粒体和叶绿体中已发现有少数 RNA 聚合酶，它们均系核基因编码，在细胞质中合成然后再运送到细胞器中的。

二、mRNA、rRNA 和 tRNA 的合成

（一）信息 RNA（mRNA）的合成与加工

1. 原核生物的 mRNA 合成

（1）启动子与转录起始：原核生物的 mRNA 是由 RNA 聚合酶催化合成的。转录的起始是基因表达的关键阶段。这一阶段的重要性就在于 RNA 聚合酶与启动子的相互作用。启动子序列上有转录起始的信号，RNA 聚合酶全酶中的 σ 亚基对启动子起始转录部位有识别能力，并专一地与启动子结合使双螺旋局部解旋，并选择其中一条链作为模板，发生转录。转录开始，合成约 8 个核苷酸的一小段 RNA 之后，σ 亚基即从 RNA 聚合酶全酶上解离下来，而由核心酶负责 RNA 链的延伸。如果把 σ 亚基从全酶中去掉，核心酶是不能找到模板 DNA 上起始位点的，因而将从 DNA 双股链的随机部位进行转录。可见，RNA 聚合酶全酶的作用是选择和起始，而核心酶的作用是链的延伸。转录起始后解离下来的 σ 亚基进入细胞质中，可同另一个核心酶分子结合，引导合成另一个 RNA 分子。RNA 转录时，模板 DNA 分子只是在转录部位暂时性局部解旋，转录一过，随即恢复原来的双螺旋结构。

启动子是连接在基因 3′端上游的 DNA 序列，长约 20～200bp 不等，它不被转录，是 RNA 聚合酶结合的部位。启动子的结构影响它和聚合酶的亲和力，从而影响基因表达的水平。启动子区与转录终止区之间的 DNA 序列为一个转录单元。原核生物中一个转录单元可以是一个基因，也可以是几个基因。为方便起见，把模板链上开始转录的起始核苷酸确定为 +1，自起始点右侧方向称为下游，其核苷酸依次编上正序号；在起始

点左侧为上游，其核苷酸则均用负值表示。启动子区就在上游区段。根据对若干大肠杆菌及其噬菌体的启动子碱基序列的分析，发现在 -10 左右的一段核苷酸序列中大多包含 TATAAT 序列，于是便把这一段核苷酸序列以其发现者的姓氏命名为 Pribnow 框(Pribnow Box)，又称 TATA 框(TATA Box)。实验证明，Pribnow 框是 RNA 聚合酶的牢固结合位点。对于大多数启动子来说，在 -35 附近还有一段 TTGCA 序列，是 RNA 聚合酶对模板的初始识别位点；像 -10、-35 这种在许多基因调控区共同存在的序列，常称为共有序列(consensus sequence)(图 14-21)。

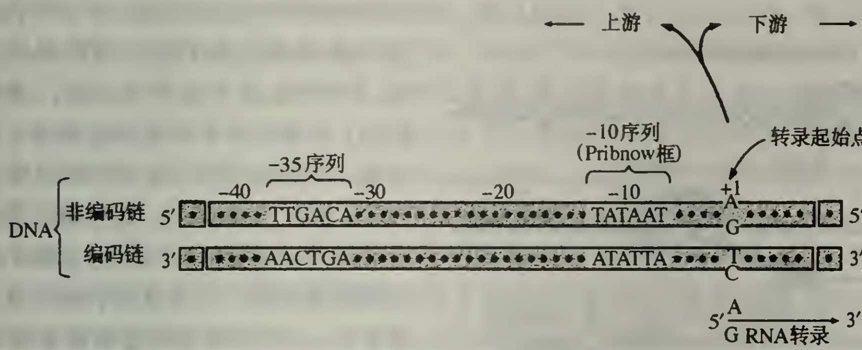


图 14-21 原核生物启动子中共有序列

(2)终止子与终止作用：DNA 模板上有提供转录终止信号的区域。这一区域的特征是普遍具有回文序列，可使 RNA 转录物形成一"发夹"结构。这种提供终止信号的序列就称为终止子(terminator)。终止子可分为两类：依赖于 ρ(rho)因子的弱终止子和不依赖于 ρ 因子的强终止子(图 14-22)。

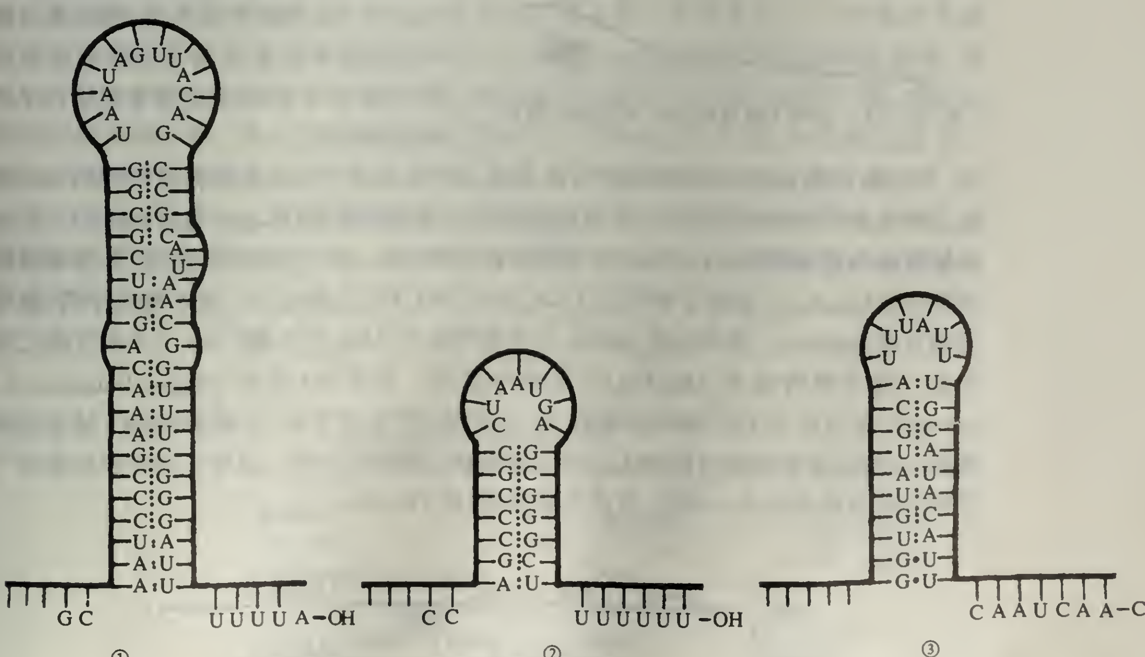


图 14-22 两类终止子类型

①和②为两类不依赖 ρ 的转录终止模式；③是依赖 ρ 的转录终止模式

不依赖 ρ 因子的终止子其回文序列区富含 G · C 碱基对，且在这段回文序列的下游方向还有一段由 4 ~ 8 个尿苷 U(相当于 DNA 模板上的 A-T 区)组成的序列。由这段 DNA 转录产生的 RNA 容易形成“发夹”式结构，并在 3′端为寡聚 U。这种结构可为 RNA 聚合酶的核心酶所识别而暂停，破坏 RNA-DNA 杂合链 5′端的正常结构；寡聚 U 的存在则使杂合链的 3′端产生不稳定的 dA · rU(DNA · RNA) 区域，使 RNA 和 DNA 杂交链易于拆开。再者，共同作用的结果便使 RNA 从三元复合物中解离出来。“发夹”式结构和寡聚 U 二者的长短与终止效率成正比关系。

依赖于 ρ 因子的终止子不但回文序列中 G · C 对的含量较少，而且回文序列下游方向的序列中也常缺乏 A · T 对，RNA 聚合酶的核心酶不易识别转录终止信号，只有结合上 ρ 因子之后，才能在 RNA3′末端的专一部位终止转录。ρ 因子是一个 Mr 为 2.7×10^5 的六聚体蛋白，具有 NTPase 活性，这种酶活性依赖于单链 RNA 的结构。此外，ρ 因子还具有解旋酶活性。一般认为，RNA 合成起始之后，ρ 因子可能结合在新生的 RNA 链的 5′端，利用水解 NTP 释放的能量，沿 5′→3′方向追赶 RNA 聚合酶，到达 RNA 的 3′-OH 端后，取代了暂停在终止位点上的 RNA 聚合酶，便与 RNA-DNA 杂合链沿 5′→3′方向解开，并从模板和酶上释放 RNA，完成转录过程 (图 14 - 23)。进一步的研究还指出，RNA 聚合酶的 β 亚基可能参与和 ρ 因子的相互作用，把嵌合于 RNA 聚合酶空间结构中的 RNA 挤出来。

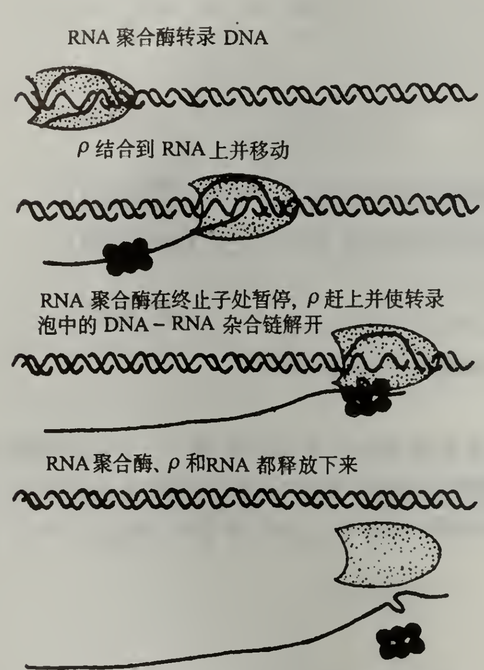


图 14 - 23　ρ 因子参与的 RNA 合成终止模式

(3) 转录的 mRNA 的基本格式：转录的 mRNA 具有一定的基本格式，它同 DNA 模板之间有着严格的对应关系。转录物的开头 5′末端为嘌呤(5′-ppA 或 5′-pppG)。在 5′末端嘌呤与起始密码 AUG 之间为一段数目不等(20 ~ 60 个)的核苷序列，是非编码的先导片段(leader)。在终止密码子(UGA, UAC 和 UAG)之后也有一段不编码序列，称为尾随片段(trailer)。原核生物 mRNA 上起始密码子 AUG 的上游约 4 ~ 7 个核苷酸之前还有一富含嘌呤的 5′-AGGAGG-3′的短小序列，称作 SD 序列 (Shine Dalgarno sequence)，它可以与 16S rRNA3′端的 3′-UCCUCC-5′区段互补，从而使 mRNA 结合到核糖体上，保证多肽链的合成能从 mRNA 序列的正确部位开始。虽然先导片段和尾随片段均为基因转录本的一部分，但并不被翻译(图 14 - 24)。

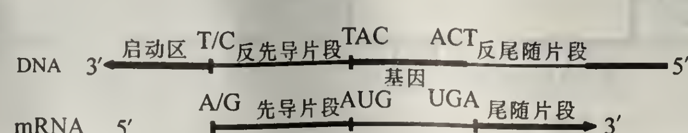


图 14 - 24　原核生物 mRNA 转录物与 DNA 模板链结构序列之间的相应关系示意图

mRNA 的转录一经开始,便以相当恒定的速率进行。该过程包括下述几种变化:①在生长链的 mRNA 链的前方 DNA 双链解离;②由 DNA 的模板链(编码链)转录;③ mRNA 链迁移;④转录完成部位解链的 DNA 恢复双螺旋结构。当 RNA 聚合酶的核心酶到达反尾随片段后面的终止区时,转录即停止。

在原核生物中,大多数 mRNA 转录物不需修饰就可被用于翻译,甚至当转录过程还在进行时,翻译活动即已开始。原核生物的 mRNA 寿命很短,一般只有几分钟。

2. 真核生物的 mRNA 合成与加工

真核生物 mRNA 一般为单顺反子结构,即仅包括一个多肽的信息。但其基因的原初转录产物(转录物)通常是由编码序列(外显子)和非编码序列(内含子)间插排列组成。因此,与原核生物及其病毒 mRNA 不同,真核生物及其病毒的最初的 mRNA 转录物必须经过依次剪除内含子,拼接外显子并修饰后才能成为成熟的 mRNA。真核生物最初的转录产物称为前体 mRNA(pre-mRNA)。核内各种前体 mRNA 的分子质量很不一致($10^5 \sim 2\times10^7$),所以过去一直称为不均一核 RNA(heterogeneous nuclear RNA, hnRNA)。前体 mRNA 能抵抗核酸酶的降解作用,在核内可存在 5 ~ 15 分钟,经加工后进入细胞质。核内的前体 mRNA 分子大部分(约 90%)要被切除,剩余部分进入细胞质,所以前体 mRNA 的分子量远大于细胞质中的 mRNA,约大 7 ~ 10 倍。真核生物前体 mRNA 的转录加工过程较复杂,这一过程是通过下述四种方式进行的。

(1) 5′末端"戴帽"(capping):转录开始后不久,在先导片段的 5′末端加上 7－甲基鸟苷酸,使核苷酸链变为 5′-M^7G-ppp(先导片段)-3′(图 14－25)。M^7G 戴帽反应是通过一些专一性酶分步进行的,有 RNA 三磷酸脂酶(RNA triphosphatase)、RNA 鸟苷酸转移酶(RNA guanyltransferase)、RNA 鸟嘌呤－7－甲基转移酶(RNA guanine 7-methyltransferase)等。戴帽反应的第一步是 RNA 5′末端的起始核苷三磷酸同鸟苷－三磷酸形成 5′-5′键,第二步则在末端鸟嘌呤的 7 位上加接甲基。7－甲基鸟苷酸帽同相邻的残基形成 5′-5′键,有效地封闭了 RNA 5′末端,使其不再加接核苷酸,同时也可以保护 5′末端不受磷酸酶和核酸酶的消化,如果 5′末端不加 M^7G 帽,则转录物可随即被酶分解。因此 5′末端戴帽有使 mRNA 保持稳定的作用。M^7G 帽也有利于 mRNA 同核糖体的结合,如果阻止 mRNA 加接 M^7G 帽或是切去已加上的 M^7G 帽,则 mRNA 的翻译能力大大降低。例如,向蛙卵细胞注入切去 M^7G 帽的球蛋白 mRNA,其翻译效率仅为未去帽者的 10%。此外,5′末端帽对于 mRNA 内部序列的准确剪接也是必需的。

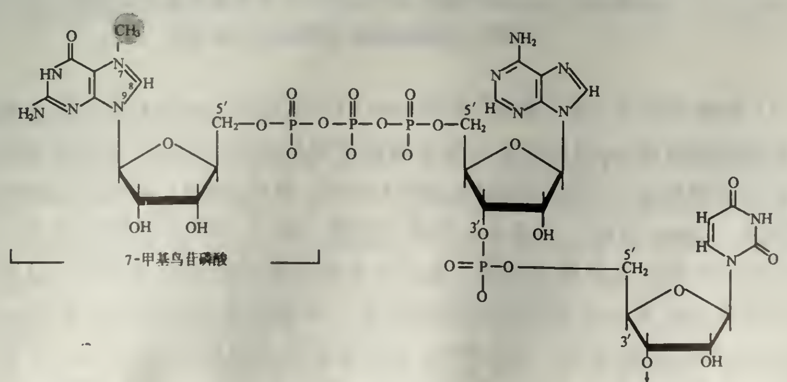


图 14－25　真核生物 mRNA 5′末端的 7－甲基鸟苷酸"帽"

mRNA 5′末端第一个核苷酸加 M^7G 的反应出现在所有的真核细胞 mRNA 中，这种帽子称为零类帽子(cap0)，单细胞真核生物 mRNA 主要是这个结构。有的真核细胞的 mRNA 在第二个、甚至第三个核苷酸的 2′-OH 位上还可能加另一个甲基，分别称为 1 类帽子(cap 1)和 2 类帽子(cap 2)。除单细胞类外的真核生物 mRNA 中以这类帽子为主。

线粒体和叶绿体中的 mRNA 转录物不发生“戴帽”变化。

(2)3′末端加尾：通过多聚腺苷酸合成酶的催化作用，在 mRNA 3′末端加接上一串腺苷酸尾[poly(A)]，尾长约 100 ~ 200 个核苷酸。但是，poly(A)尾并不是直接加到转录终止后的 3′末端，而是在前体 mRNA 转录临结束时，其 3′末端要进行修饰，即由一个特异性的切割和多腺苷酸化专一因子（Cleavage and polyadenylation specificity factor, CPSF)与 RNA 聚合酶Ⅱ结合，在 3′末端的专一部位先切开。这个切点上游方向约 10 ~ 30 个核苷酸处有一AAUAAA 序列，切点下游方向则有 GUUGUU 序列(单细胞生物除外)，是切割的信号。这一信号序列可被 snRNA 识别并在切点的 3′端再由多聚腺苷酸酶加上多腺苷酸尾（图 14-26)。如果这一识别信号发生突变，如 U→G，则切除作用和多聚腺苷酸化作用都显著降低。Poly(A)是 mRNA 由细胞核进入细胞质所必需的形式，同时大大提高了 mRNA 在细胞质中的稳定性。如果将具有 ploy(A)的珠蛋白 mRNA 注入爪蟾卵母细胞，其蛋白质合成能力可维持相当水平达二周，合成约 100 000 个蛋白质分子。如注入的是没有（或被切除）poly(A) 的珠蛋白 mRNA，则 mRNA 寿命大大缩短。再用 RNA 腺苷转移酶使后者接上 poly(A)尾，那么珠蛋白 mRNA 的稳定性又可恢复。说明 poly(A)尾有保持 mRNA 稳定性的作用，因而提高了蛋白质合成总量，但在细胞内还有约 15% 的 mRNA 无 poly(A)尾，如组蛋白。叶绿体和有的线粒体转录物也要发生多腺苷酸化(polyadenylation)。

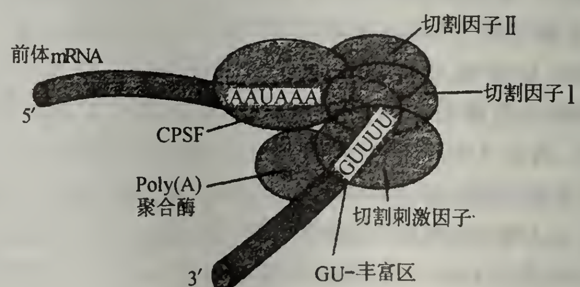


图 14 – 26　真核生物 mRNA 尾部的多聚腺苷酸化示意图
(CPSF: 切割与多腺苷酸化专一因子)

(3) 切除内含子：除“戴帽”和加 poly(A) 尾以外，mRNA 原初转录物还要进行修剪。首先要把前体 mRNA 中的一些非编码序列的内含子切去，再将有编码意义的各相邻外显子首尾相接，才构成完整的 mRNA 分子。前体 mRNA 编码区之间的非编码序列可以很长。Leder 发现，家兔 β – 珠蛋白的第 104 与 105 氨基酸密码子之间就存在着 550 个核苷酸的非编码插入序列，这 550 个核苷酸在剪接时被除去，从而使修剪后的 mRNA 中第 104 和 105 氨基酸密码相邻接。真核细胞各种基因中的插入序列数目不同，如血红蛋白基因有两个插入序列，而胶原蛋白基因则有 50 个插入序列。鸡的卵清蛋白有 8 个外显子和 7 个内含子，其前体 mRNA 是由 7564 个核苷酸组成，经切去内含子后，由 8 个外显子拼接而成的成熟 mRNA 则只剩下 1872 个核苷酸。通过剪切，前体

mRNA 的 90% 核苷酸序列被切去。

真核生物前体 mRNA 的内含子 5′和 3′的剪接位点各有一个共有序列（consensus sequence），分别为 $^{C}_{A}$AAG GU RAGU 和 Y_nNYAGG，称为 GU-AG 规则（图 14-27），是剪接的识别位点。此外，内含子内部 3′端上游 18～40 核苷酸处还有一个保守的共有序列 UACUAA*C，其中第三个 A 是剪接反应中分支点所在处。不过，单靠这三种简单的保守序列还不能准确剪切，还必须有由小分子核 RNA（sn RNA）（见本节三（四））和多种蛋白质组成的剪接体来执行剪接任务（图 14－28）。组成剪接体的 snRNA 有 U1、U2、U4、U5、和 U6 等 5 种，每种 snRNA 分别和 5～9 种蛋白质结合成为小分子核 RNA 蛋白（small nuclear RNA protein, snRNAP）这些蛋白质有的是依赖 DNA 的 ATP 酶，有的是解螺旋酶，在剪接反应中有着非常重要的作用。

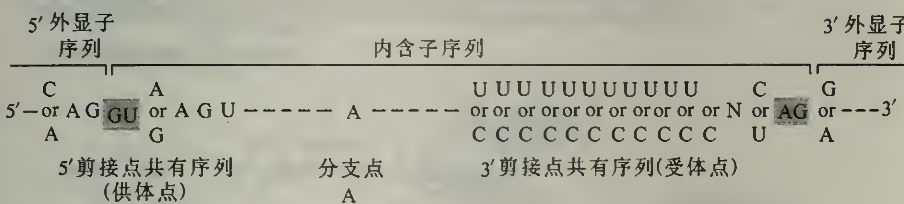
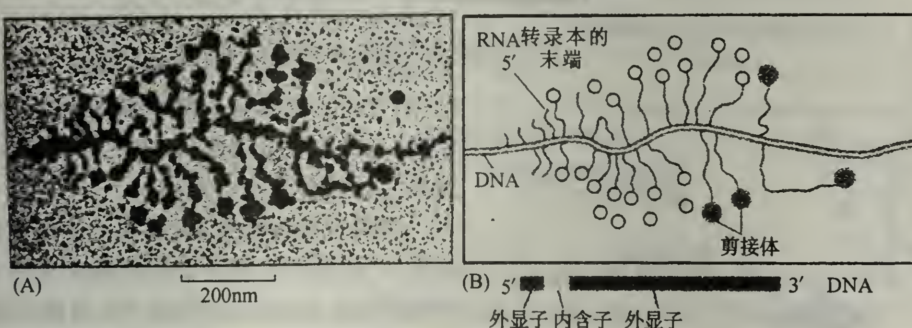


图 14－27　高等真核生物中用于前体 mRNA 剪接的共有序列



14－28　染色质铺展开的电镜图（A）和图解（B）.，示剪接体

图中的 RNA 转录本是果蝇的一个卵壳蛋白基因的编码产物，该基因的内含子接近于转录本 5′末端，已知原初转录本中的剪接部位。图示在 5′和 3′端剪接位点区装配有大的核糖核蛋白颗粒，即剪接体（图中的大黑颗粒）。图中大多数转录本近 5′端处附着有 1，2 个 RNP 颗粒。如果附着的为 2 个颗粒时，则表示颗粒是 在于内含子的 5′端和 3′端剪接部位。在较成熟的长转录本中，内含子区往往只显示出有一个大颗粒，此即剪接体，它是由两个小颗粒稳定地结合而成。（自 Alberts, B.　1994）

剪接体的装配可分为以下几步：

首先由 U1 通过碱基互补的方式与 mRNA 内含子 5′剪接位点的序列配对结合，随之 U2 辅助因子（U2 auxiliary factor, U2AF）识别该内含子的 3′剪接点，并辅助 U2 结合到分支点上组成剪接前体（pre-spliceosome）。此时还有其他剪接因子也参与剪接前体。在 U1 结合的这一步中，不需要 ATP；而 U2 的结合则需要 ATP。U1、U2 的结合可使这两段核苷酸序列在空间上相互接近，而且 U2 与分支点上的相互作用还使分支点的腺苷（A）突出，有利于剪接过程中形成分支套索结构。以后，剪接前体进一步与 U4/U6 以及 U5 的三聚体以及数种和剪接体相联的蛋白质（spliceosome associated protein, SAP）相结合，完成剪接体的组构（图 14－29）。在 U4/U6 和 U5 结合到剪接前体之后，

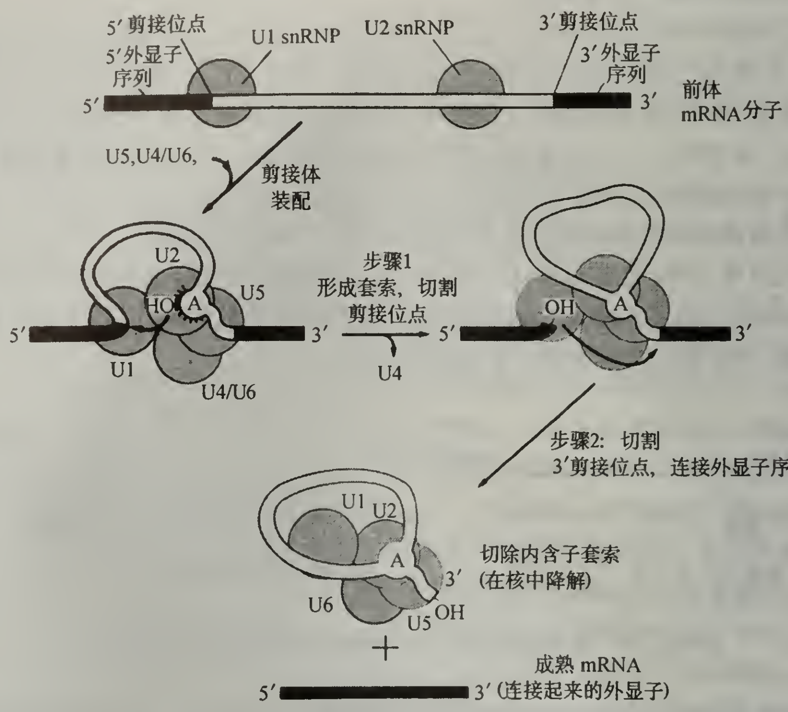


图 14－29　剪接体的组构和前体 mRNA 的剪接

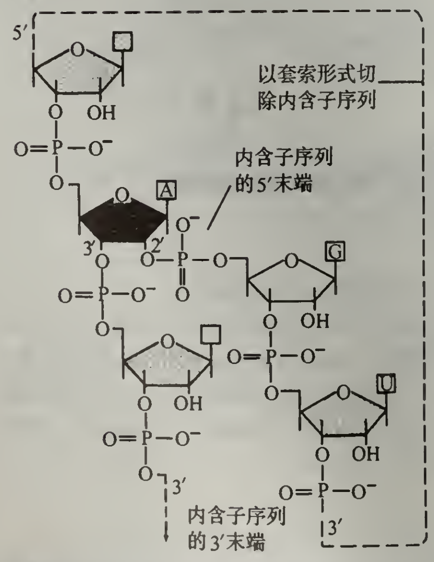


图 14－30　前体 mRNA 拼接时 RNA 分支链的结构

U1 结合的 5′剪接点上的磷酸基才能转移到 U2 结合的分支点突起 A 的 2′－羟基上，生成第一个转酯套索中间物。

剪接反应分两步进行，第一步是靠近内含子 3′端分支点 A 的 2′－羟基攻击内含子 5′端剪接位点的 G，发生第一次转酯反应，G 和上游外显子的最后一个碱基间的磷酸二酯键断裂，而与 A 形成新的 2′-5′磷酸二酯键，内含子 5′端连接在 A 上形成套索 (lariat) 状。第二步的转酯反应是由上游外显子游离 3′端以其 3′-OH 攻击第二个外显子序列的起始点，再由分支酶 (debranching enzyme) 在内含子 3′剪接点切开 RNA 分子，使内含子以套索状分离，两个外显子联结 (图 14－30)。由此可见，前体 mRNA 分子两个外显子的拼接实际是两次连续的转酯过程。整个剪接过程还需要依赖 RNA 的 ATP 酶和依赖 ATP 的解螺旋酶等一些蛋白质因子提供能量和解链，才能得到最终剪接产物。剪接完成后，剪接体要解聚。据现有资料，每剪接一个内含子，需要组装一次剪接体。关于前体 mRNA 的剪接程序，从酵母一直到人类都是一致的。

上述的剪接反应是有序地删除前体 mRNA 中的每一个内含子，是分子内的剪接，称为顺式剪接 (cis-splicing)。有时，一个成熟的 mRNA 是由两个或两个以上的基因编

码，需要把分别位于不同前体 mRNA 的外显子剪切和拼接成一个成熟的 mRNA 分子。这种分子间的特殊剪接就称为反式剪接(trans-splicing)。反式剪接也是在剪接体中进行。反式剪接最初是在病毒中发现,以后发现锥虫和线虫前体 mRNA 是以反式剪接为主。后来在人体内也观察到这种剪接方式,但有关控制机制尚不清楚。

在高等生物中,多数前体 mRNA 含有多个内含子,并依次准确地逐一切除。但在不同细胞形态、不同发育阶段和不同生理状态下,来自同一基因的前体 mRNA 中的某个内含子 5′端供点可与又一内含子的 3′端进行剪接，使这两个内含子和它们中间的全部外显子和内含子都被删除。一个前体 mRNA 因不同剪接方式产生多种成熟 mRNA 的这种剪接方式便称为交替剪接(alternative splicing)(图 14－31)。

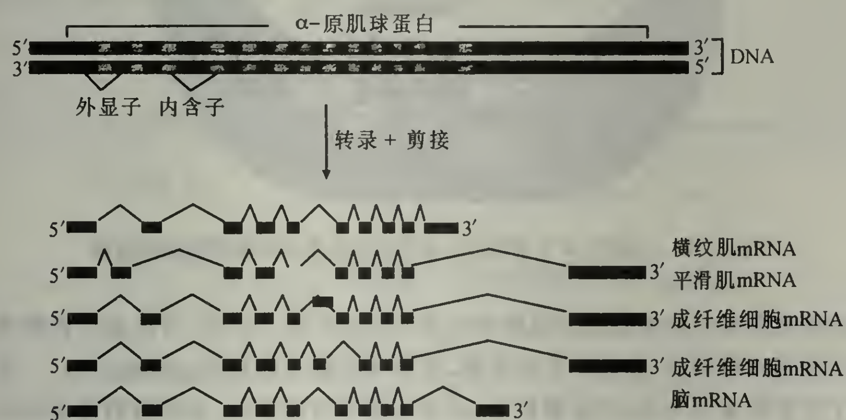


图 14－31 交替剪接方式示意图
(代表外显子,一代表内含子)

(4) 链内某些核苷酸的甲基化：前体 mRNA 上有的核苷酸常出现甲基化修饰，主要是形成 6－甲基腺嘌呤(M^6A)。哺乳动物 mRNA 中每 100～400 个腺嘌呤中就有 1 个是甲基化的。这种甲基化修饰可发生在前体 mRNA 剪接之前。

mRNA 的转录和加工是在细胞核内进行的。前体 mRNA 的平均长度约为成熟 mRNA 的 10 倍,不能穿过核孔。据估计,转录出的前体 mRNA 总量中,只有 1/20 离开了核。因此,初级转录物很大部分(约一半)在核内降解,从不形成 RNA 分子进入细胞质,只有成熟的 mRNA 可经核孔进入细胞质(图 14－32),因此,核孔对 RNA 的通过有一定的选择性,其受体可识别 hnRNP 蛋白质的核输出信号(NES)。hnRNA 一经转录出来,便与蛋白质结合形成核糖核蛋白的颗粒。mRNA 的种类很多,但结合的蛋白质目前已知的约 6 种。hnRNA 是在此种颗粒中加工。核孔上的受体蛋白能识别成熟 mRNA,只有 5′末端具有专一核苷酸帽和 3′末端有多 (A) 尾的 mRNA 才主动运输到细胞质中。这一点很重要，可以避免一些废弃的 RNA 片段进入细胞质溶质。加工成熟的 mRNA 仍结合有载体蛋白分子,并以 RNP 颗粒的形式进入细胞质。这些 RNA－蛋白质复合物可在细胞质中较长时间存在。例如哺乳动物的网织红细胞(不成熟的红细胞)在丢失核后的几小时,甚至几天内仍在继续合成血红蛋白,表明仍有长寿命的 mRNA 在活动。翻译时,载体蛋白分子脱离 mRNA,返回核内,参加另一轮的 RNA 包装和运输(参见图 12－9)。

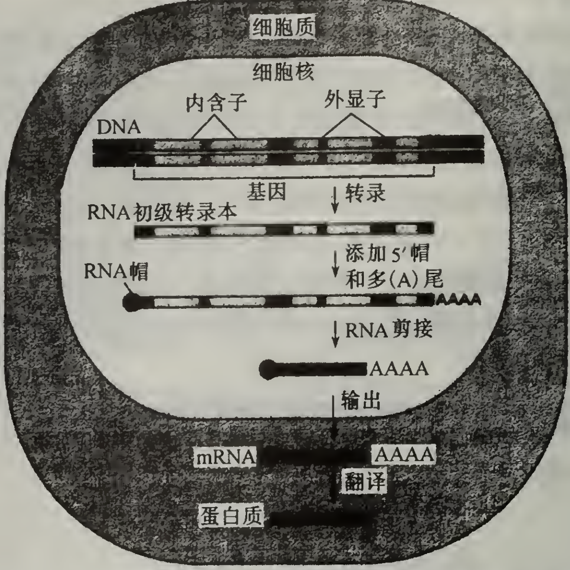


图 14－32　mRNA 及分子的加工过程经核孔进入细胞质溶质的运输

真核生物的各种结构基因可被转录产生一定的产物。可是,有些基因在核苷酸序列上与功能基因很相似,却并不具有功能,这类基因称为假基因(pseudogene)。这种基因是由于突变积累而失活,不能被转录,成为功能基因的赝品,是基因的退化形式。假基因只含有功能基因不完整的部分结构,不含有或部分丧失内含子,因此,转录出来的 mRNA 很不稳定或无翻译功能。假基因多位于相应的正常基因的附近,但也可能存在于不同的染色体上。现已发现在爪蟾 5S rRNA,小鼠、兔和人的 α 或 β 珠蛋白中均含有假基因。

(二)核糖体 RNA(rRNA)的合成

rRNA 是核糖体的组成成分,占核糖体分子量的 50%～65%。在核糖体的自动装配、保持核糖体的结构、提供核糖体蛋白质附着的骨架以及确保核糖体正确执行其生物学功能和肽链合成中,rRNA 均起着主要的作用。原核生物和真核生物核糖体所含的 rRNA 种类不同,其合成 rRNA 的方式也有所不同(表 14－4)。

表 14－4　原核生物与真核生物核糖体的 rRNA 的组分

核糖体类型	大小	亚单位	rRNA
原核生物	70S	50S	23S＋5S
		30S	16S
真核生物	80S	60S	23S＋5S＋5.8S
		40S	18S
线粒体	55S	35S	21S＋3S
		25S	12S

1. 原核生物前体 rRNA 的合成与加工

原核生物中有 16S、23S 和 5S rRNA 的三种基因，这几种基因排列在一个操纵子中，其间插入 tRNA 的基因，组构形式是：

16S rDNA—tDNA—23S rDNA—5S rDNA—tDNA

已知在大肠杆菌基因组中有 7 个这样的 *rrn* 的操纵子，只是其中 tRNA 基因的种类、数量和位置不尽相同。1969 年 C. Woese 证明这些基因是连续转录下来的。rRNA 基因转录时，首先合成 30S 前体 rRNA，然后经过加工产生成熟的 rRNA。30S 前体 rRNA 存在的时间极短暂，转录出来后(或在转录中)随即被核酸酶剪切成 17S 和 25S 的中间体，最后才切成 16S、23S 和 5S rRNA，另外还有 4S tRNA(图 14－33)。

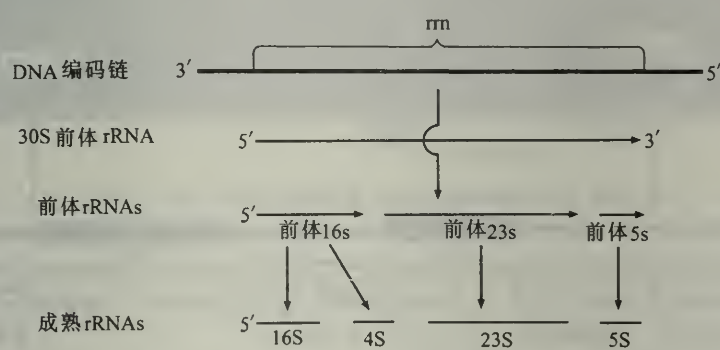


图 14－33　大肠杆菌 rRNA 的转录与加工

2. 真核生物前体 rRNA 的合成与加工

真核生物有 18S、5.8S、28S 和 5S 4 种 rRNA，这些基因在染色体上的分布不同于原核生物。其中 18S、5.8S 和 28S rRNA 编码的基因存在于核仁组织区 (NOR) 中 (图 14-34)，而 5S rRNA 基因则存在于 NOR 以外的区域中。基因为中等重复 rrn 序列，可有几百次重复，这种重复现象在生物界中具有普遍性，但不同生物中 rRNA 基因的重复次数不同(表 14－5)。

一般认为，rRNA 基因的拷贝数与生物的进化地位有一定的关系。如原核生物仅有 5～10 个拷贝的 rRNA 基因，在低等真核生物和动物单倍体细胞的染色体中，rRNA 基因的拷贝数由几个增加到数百个；高等植物单倍体细胞的染色体中，rRNA 基因拷贝数有的多达几千甚至上万个。这种现象是由于真核细胞合成蛋白质的种类和数量都远多于原核细胞，需要更多的核糖体，因而就需要合成更多的组成核糖体的 rRNA。真核细胞每 15 个小时可装配约 2×10^6 个核糖体，这也就是说 RNA 聚合酶 Ⅰ每秒钟需合成 30 个核苷酸。

在电镜下可观察到 rRNA 基因的重复现象，如将核仁物质分散开后，表现为在 DNA 链上一长串相连的呈雪松状的单位，每一单位即代表 1 个 *rrn* 基因和从它转录出的前体 rRNA 转录本。1 个 *rrn* 基因是 1 个转录区，转录区之间有不转录的间隔区，1 个转录区内可在许多点上附着有 RNA 聚合酶 Ⅰ分子，同时进行转录，所以可以看到在转录区内 DNA 之轴两侧有依次由短到长的 rRNA 转录本在合成(见图 14－34)。其中最短的离基因 3′末端近，越长的越靠近基因 5′末端。

哺乳动物(包括人类)核仁组织区中的 rRNA 基因在 RNA 聚合酶 Ⅰ的催化下，先合

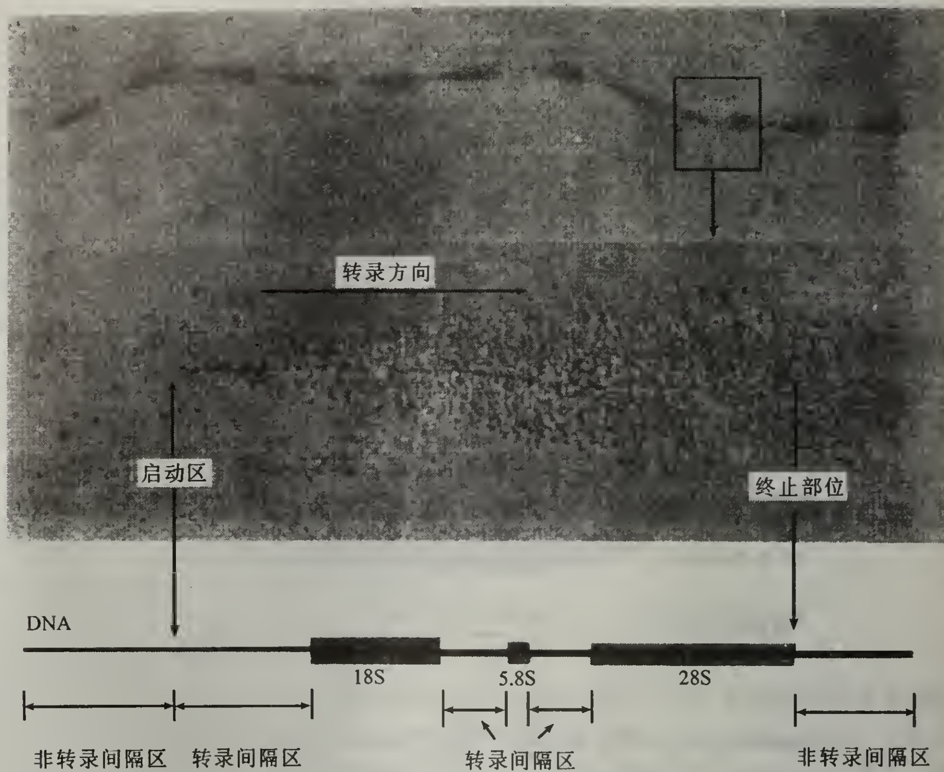


图 14 - 34　真核生物 rDNA 的重复排列形式

表 14 - 5　不同生物 rRNA 重复序列数

生物	rDNA(%)	单倍体 rRNA 基因重复数
大肠杆菌	0.42 ~ 0.65	8 ~ 22
枯草杆菌	0.38	9 ~ 10
HeLa 细胞	0.005 ~ 0.02	160 ~ 640
果蝇(野生型)	0.27	130
爪蟾(野生型)	0.2	450

成一个包含有 18S、5. 8S 和 28S rRNA 的 45S 前体转录物，然后经过加工才产生成熟的 rRNA。rRNA 的加工与 snRNA 中的 U3 有关。哺乳动物 Hela 细胞，核仁组织区中的 rRNA 基因就是在聚合酶催化下先合成 45S RNA 前体分子，但其寿命不长，大约只有 15 分钟，随即被酶切断，约有 80% 的长度形成 18S、5. 8S 和 28S rRNA，所余的 20% 间隔区闲置不用。非转录间隔区则不被转录。45S 前体 RNA 还要经过一定顺序的切割处理。首先要切割成 20S 和 32S 两部分，20S RNA 很快被处理成 18S RNA，参与核糖体小亚基的装配，因此核糖体小亚基进入细胞质的时间要早于大亚基。32S RNA 在核内还要存留约 40 分钟，然后被切割成 28S 和 5. 8S RNA，约用 30 分钟被装配到核糖体大亚基中，进入细胞质(图 14 - 35)。U3 snRNA 同 32S 前体形成紧密结合可能与此前体物的分割有关。

近年来人们发现有些生物 rRNA 的前体中有内含子，必须在前体 RNA 加工过程中除去。目前有关四膜虫前体 RNA 的自我剪接是研究得较为清楚的。四膜虫大核 26S

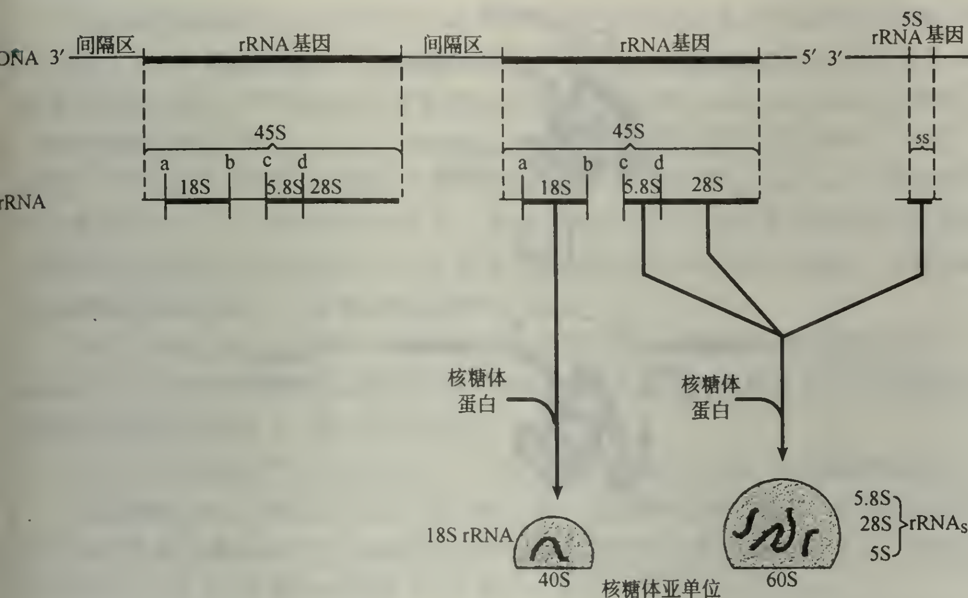


图 14－35 真核生物前体 rRNA 的处理和 rRNA 组装

45S 前体 rRNA 至少要在 4 个部位进行剪切：①去掉先导序列，留下 41S 片段；②切成 20S 和 36S 前体 rRNA，20S 片段随即被切成 18S rRNA，参加 40S 小亚单位组成；③ 36S 片段切除一小段，成为 32S 片段；④ 32S 片段再被切成 28S 和 5.8S rRNA，参加核糖体大亚单位的组成。在基因组其他部位的 5S rRNA 同步转录，亦参加大亚单位的组成

RNA 基因中有 1 个长约 413bp 的内含子，在具有 Mg^{2+}和 GTP 的条件下可以观察到其内含子被剪接的过程。这个过程的第一步是 1 个游离鸟苷（或 GTP、GDP、GMP 等）作为一个辅因子以 3′羟基首先攻击内含子的 5′端，于是在外显子的 3′端出现 1 个 3′羟基。而后这个新出现的外显子 3′羟基以同样的方式攻击第二个外显子 5′端与内含子之间的磷酸二酯键，使两个外显子形成 3′→5′连接（图 14－36）。可见，在这一剪接过程中，实际上发生的是转磷酸酯反应，而在前体 RNA 剪接中并不需要 GTP 或 ATP 外源能量，是内含子自我催化的形式，故常称为自我剪接（self-splicing）。在 RNA 自我剪接过程中，RNA 既是底物也是催化剂，RNA 分子内共价键断裂后又重新连接起来，这类具有催化作用的 RNA 就被称为 RNA 催化剂（ribozyme，又被称作核酶）。

5S RNA 是在 RNA 聚合酶Ⅲ的催化下，由核仁组织区外的 5S RNA 基因转录合成。核仁组织区内的 rDNA 在转录时是和 5S RNA 基因互相配合进行的。5S RNA 和 28S、5.8S 结合参加核糖体大亚基，18S rRNA 则参加核糖体小亚基的形成。

（三）tRNA 的合成与修剪

tRNA 是 1957 年发现的，它主要的生物功能是运载氨基酸，参与核糖体上蛋白质生物合成。每一种氨基酸可被具有特定结构的一种或几种 tRNA 运载，但一种 tRNA 只能运载一种氨基酸。现在已知包括细菌和许多真核生物在内的 tRNA 分子都具有三叶草形的二级结构（图 14－37），分子链内有互补碱基序列，也有不配对的“独身”碱基。尽管这些 tRNA 在结构上有一定差异，但它们却具有一些共同的结构特点：

（1）分子量约为 2.5×10^4。

（2）含有较高比例的“独身”碱基，仅有约一半的碱基配对形成双螺旋。

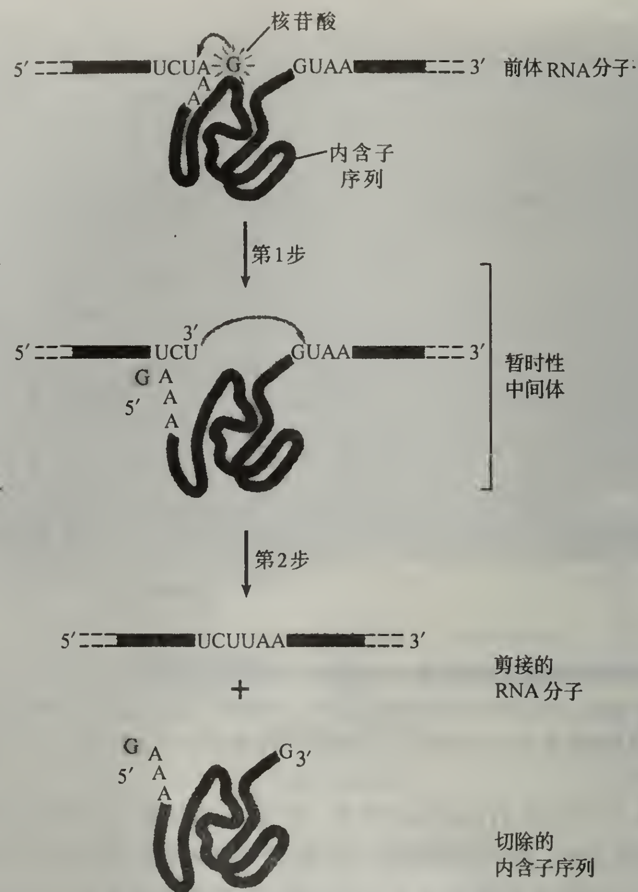


图 14－36　四膜虫核糖体 RNA 直线剪接模型

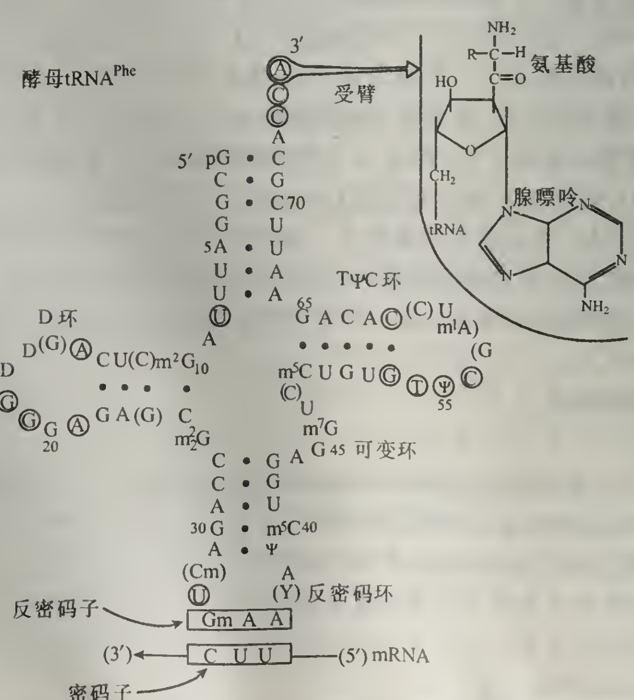


图 14－37　tRNA(酵母苯丙氨酸 tRNA)的三叶草式构型图解

(3) 具有相同的三叶草式构型，有 4 条根据其结构或已知功能命名的手臂。受臂(acceptor arm) 是由链两端序列碱基配对形成的杆状结构和 3′末端未配对的 3～4 个碱基所组成。有由 7 个不配对的核苷酸形成的反密码子臂(anticodon arm)，其中含有 3 个核苷酸组成的反密码子。有一个因它含有二氢尿嘧啶而命名的 D 臂和 1 个含 TΨC 的臂。另外，在 TΨC 臂和反密码子臂中间还常有 1 个多余臂(extra arm)，其中所含的核苷酸数可由 3～4 个到 10 余个不等。在翻译活动中各个臂起着不同的作用，反密码子臂可识别 mRNA 上的密码子，TΨC 臂是同核糖体 5S RNA 结合的部位，D 臂为结合氨基酸激活酶的部位。(Ψ 代表假尿嘧啶。)

(4) 在 tRNA 的 3′末端有一 CCA 核苷酸序列，其中 A 是附着氨基酸的部位。有的 tRNA 的 CCA 序列是由 DNA 模板转录下来的，(绝大部分的原核生物)；有的则是在转录后通过酶的作用加上去的(真核生物)。

(5)呈 L 形折叠式的三级结构(14－38)。这种结构与 tRNA 合成酶的识别有关。

真核细胞 tRNA 基因位于染色体非核仁区。在高等生物中 tRNA 基因可以重复出现，如在非洲爪蟾和哺乳动物细胞中每个 tRNA 基因可重复出现 200 余次，而在细菌中只出现 1～2 次，在酵母中则为 5～7 次。

tRNA 的转录是在 RNA 聚合酶催化下，由 DNA 模板的 tRNA 基因转录产生 tRNA 前体，它比成熟的 tRNA 多几十个核苷酸，数量不等。在真核生物中 tRNA 的转录是由 RNA 聚合酶Ⅲ催化。原核生物 tRNA 基因的转录单元常是多基因的，不但同一种 tRNA 的几个基因拷贝可以转录在一条 RNA 中，而且不同的 tRNA 也可以转录在一条 RNA 中。在真核生物的 tRNA 基因中则常含有插入序列。因此，不论原核生物还是真核生物其 tRNA 的最初转录产物都必须经过加工过程，除去其中的前导序列、间隔序列、尾随序列、插入序列等，并进行修饰，才能形成有活性的成熟 tRNA 分子。真核生物 tRNA 前体的转录后加工过程是在细胞质中进行的。

转录后的 tRNA 前体整个加工过程的主要变化如下(图 14－39)：

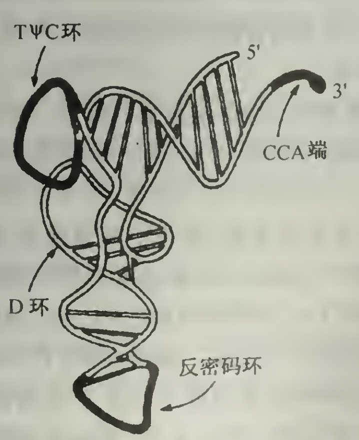


图 14－38 酵母苯丙氨酸 tRNA 的三级结构

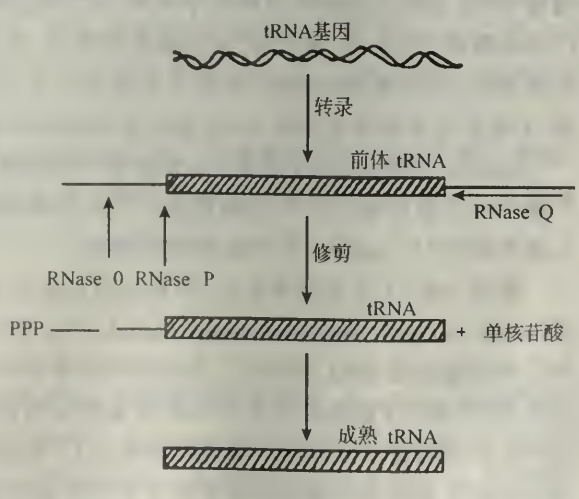


图 14－39 tRNA 前体加工步骤示意图

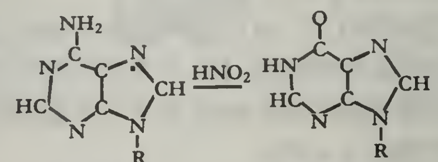
(1) 修剪：由专一的加工酶将 tRNA 前体中多余的核苷酸切除，产生与成熟 tRNA 分子等长的核苷酸链。例如，大肠杆菌的酪氨酸 tRNA 前体中，5′端有 39 个额外核苷酸，3′端有 3 个额外的核苷酸，切除后，tRNA 才能具有活性。对于转录后由若干 tRNA 组成的长前体物，则要经过专一的核酸内切酶 P(ribonuclease P, P 代表 procession) 的

作用，切割成多个 tRNA。RNAase P 是由 RNA 和蛋白质(5:1)组成的复合物，其催化活性由 RNA 承担。

在有的真核生物 tRNA 基因中，于反密码子的 3′方向与密码子相毗邻处有 1 个 10～60bp 的插入序列，是由剪接核酸酶（splicing endonuclease）和连接酶（ligase）切除。这两种酶都不同于 mRNA 剪接时所用的酶。tRNA 内含子末端没有保守序列，但剪接酶能识别折叠的 tRNA 的保守形式。

(2) 加 CCA 序列：最初转录的 tRNA 3′端没有 CCA 序列，须在转录后经酶的作用连接上 CCA-OH。这一序列是 tRNA 运载氨基酸所必需的。

(3) 修饰：在 tRNA 的特定部位上通过专一性酶过程把核苷酸转变为异常核苷酸。如反密码臂中的次黄嘌呤核苷酸就是在转录后经酶催化腺嘌呤使其 6 位碳上脱氨而成：



腺嘌呤　　次黄嘌呤

反密码臂中次黄嘌呤的存在，具有更强的变偶效应。这是因为次黄嘌呤与胞密啶、腺嘌呤、尿嘧啶都可配对。

(四) 小核 RNA(snRNA)

真核细胞中除合成前述 3 种 RNA 外，在细胞核里还存在一类小核 RNA(small nuclear RNA, snRNA)，其长度约 100～200 个核苷酸，共分为 7 类，由于含 U 丰富，故编号为 U1～U7。snRNA 只存在于核中，其中 U3 存在于核仁中，其他 6 种存在于非核仁区的核液里。除 U6 由 RNA 聚合酶Ⅲ转录外，其他的 snRNA 都是由 RNA 聚合酶Ⅱ催化转录的，具有修饰的碱基，并在 5′末端有一个三甲基鸟苷酸(TMG)的类似“帽”的结构，3′端有自身抗体识别的 Sm 抗原结合的保守序列。

snRNA 的特点是：①稳定，半寿期常与核糖体相近；②含量丰富，如 U1 分子在每个核中的含量可有 10^6 个；③普遍性，在动、植物细胞中均含有 snRNA；④高度保守，如人和爪蟾的 U1 snRNA 有 90% 的序列相同。

通常 snRNA 不是游离存在，而是与蛋白质结合成复合物，称为小核核糖核蛋白颗粒(small nuclear ribonucleoprotein particle, Sn RNP)。snRNA 不参加蛋白质合成活动，其主要功能是在 RNA 进行加工方面具有重要作用。U3 snRNA 与核仁内 28S rRNA 的成熟有关，而 U1 则是在核液中与前体 mRNA 的剪接加工有关。实验表明，U1 对前体 mRNA 中的内含子－外显子接点有辨认能力，并把相邻的接点拉近。U1 5′末端部分序列与内含子转录物两端的末端序列有着高度的互补关系，因而在 U1 剪接体组装中起识别作用。snRNA 中的蛋白质部分具有核酸酶和连接酶活性，能把转录在内含子－外显子接点处切断，并把两个游离端连接起来。

第四节　翻译与蛋白质的生物合成

一、mRNA、tRNA 和核糖体在蛋白质合成中的作用

(一)作为模板的 mRNA

mRNA 的作用是把从 DNA 继承的信息传递给多肽链。mRNA 核苷酸序列中含有由 3 个核苷酸组成的一个个三联体(triplet),特定的 3 个核苷酸即为一个密码字(code word),即密码子(codon)。1 个密码子对应 1 种氨基酸。1961 年 M. Nirenberg 首先用实验证明了密码子与氨基酸的对应关系。他把多尿苷酸加入到能持续进行蛋白质合成的体系中,结果合成了由单一苯丙氨酸残基构成的多肽,由此说明三联体 uuu 是为苯丙氨酸编码。以后,Nirenberg 等相继破译了组成多肽的所有氨基酸的密码子。在 64 种密码子中有 61 种为氨基酸编码,有 3 种(UAA, UAG 和 UGA)是多肽链的终止信号。生物蛋白质由 20 种氨基酸组成,而氨基酸密码子却是 61 种,显然有许多氨基酸有多个密码子,这种现象称为简并 (degenerate)。对应于同一氨基酸的密码子称为同义密码子(synonymous codon)。例如亮氨酸就有 6 种同义密码子:CUA、CUG、CUC、CUU、UUA 和 UUG。同义密码子一般不随机组合成,其第一、二位核苷酸常是相同的,只是最后一位的核苷酸有差别(见附录Ⅵ)。但这种差别并不影响所编码的氨基酸,这样可减少变异对生物的影响。为解释这种现象,F. Crick 提出变偶假说(wobble hypothesis),这个假说主张,当 tRNA 的反密码子与 mRNA 上的密码子配对时,对前两个核苷酸有严格的专一要求,而第三个核苷酸则可以有所变动,因而使某些 tRNA 可以识别 1 个以上的密码子。一般而言,为某一核苷酸编码的密码子愈多,该氨基酸在蛋白质中出现的频率也会愈高,只有精氨酸是个例外。另外,在这些为氨基酸编码的密码子中,AUG 和 GUG 既分别是甲硫氨酸和缬氨酸的密码子又可兼为起始密码子,但在真核生物中只用 AUG 为起始密码。

mRNA 所携带的密码是从编码序列 5′端开始,按顺序阅读至 3′端的终止密码。mRNA 的密码是连续的,无间隔区,因此在 mRNA 多核苷酸链中插入或去掉 1 个碱基,则因阅读移格,造成信息阅读失误。

(二)核糖体

核糖体是由几十种蛋白质和几种 rRNA 组成的亚细胞颗粒,为 mRNA 的密码翻译的场所,执行着多肽链合成的功能。但翻译不是单一核糖体的行为,而是由一群核糖体共同运作,由 mRNA 串连起来的一群核糖体,是核糖体的聚合物,称多核糖体(polysome 或 polyribosome)。一个细菌细胞中约有 20 000 个核糖体,真核细胞中核糖体的含量则可达 10^6 个,而在蟾蜍未成熟的卵细胞中甚至高达 10^{12} 个。核糖体颗粒既可以分离状态存在于细胞内,也可与内质网结合。在真核生物中,所有正在进行多肽合成的核糖体都不是在细胞质内自由漂浮,而是直接或间接同细胞骨架或内质网膜结构相连。细菌核糖体则多通过同 mRNA 的相互作用,与基因组相连。

组成核糖体的大、小两个亚基都各含有一个相对分子质量较大的 RNA 和许多不同的蛋白质分子，这些大分子 rRNA 是在特定位点同蛋白质结合，以完成不同亚基的组装。在核糖体上有多个由一组组特殊的蛋白质所构成的活性中心，虽然有些蛋白质本身具有催化功能，但如果把它们从核糖体上分离出来，其催化功能就会完成消失。可见，核糖体是一个多酶的集合体，单个的酶或蛋白质只有在这个整体结构中才拥有催化性质，共同承担着蛋白质生物合成的功能。核糖体中许多蛋白质可能主要就是起着建立这种总体结构，从而使各个活性中心处于适当的相互协调的关系之中，形成正确的空间布局和高级结构，把翻译系统中各种组分聚集在一起，完成将遗传信息从 mRNA 到多肽链的转变。在多肽链合成过程中，核糖体结合到 mRNA 链上后，不同的 tRNA 将同时达到核糖体的相应位置，所以，核糖体至少必须包括 5 个活性中心，这就是：mRNA 结合部位、AA-tRNA 结合或接受部位（A 位）、结合或接受肽基 tRNA 的部位、肽基转移部位（P 位）以及肽键形成部位（转肽酶中心），另外还有负责肽链延伸的各种延伸因子的结合位点。

在合成肽链的过程中，核糖体沿 mRNA 链由 5′末端向 3′末端移位，每次移位可准确地移动一个密码子的位置，到终止子时合成一条完整的肽链，核糖体即脱离 mRNA 链，并解聚成大、小亚基，重新参加另一轮肽链的合成，或两个亚基结合生成稳定的核糖体，不参与蛋白质的合成。

（三）tRNA——翻译中氨基酸的载体分子

在翻译过程中，并不是氨基酸直接去识别 mRNA 上的密码子，而是要通过 tRNA。因此在肽链合成中 tRNA 处于关键地位，既为 mRNA 上每个密码子的翻译提供接合体，又是把氨基酸运送到核糖体上的运送载体。

tRNA 要起到上述的作用，则必须具有识别 4 种对象的能力。对 tRNA 分子结构的分析表明具有专一识别功能的 4 个专一性部位是：

（1）氨基酸附着部位（amino-acid attachment site）：即 3′末端的 CCA 序列。

（2）氨基酸激活酶识别部位——D 环：可识别专一的氨酰基 tRNA 合成酶（aminoacyl-tRNA synthetase），此酶又称氨基酸激活酶（amino-activating enzyme），它对氨基酸有专一性，是一类催化氨基酸与 tRNA 结合的特异性酶。

（3）核糖体识别部位（ribosome-recognition site）：有助于 tRNA 和核糖体相互作用。此部位是 TΨC 环（T 环）。此环中的序列可与核糖体的 5S rRNA 上的相应序列互补。

（4）密码子识别部位（coding-recognition site）：即反密码子。每种 tRNA 都有由特定核苷酸序列编成的反密码子，可正确识别 mRNA 上的密码子，能将所携带的氨基酸正确地装配到生长着的肽链的适当位置上。

反密码子 5′端可与不同的碱基配对，一种 tRNA 能识别几种密码子，这就是变偶假说所要说明的现象。例如，反密码子第三位的 G 可同密码子的 U 或 A 配对，反密码子的 U 可同 G 或 U 配对。特别是若反密码子第三位上（5′端）为次黄嘌呤时，那么配对的变动性更大。次黄嘌呤是由腺嘌呤的氨基变为羰基衍生而成（$NH_2 \rightarrow C=O$）。次黄嘌呤可分别同 U、A 或 C 甚至 G 形成氢键而配对。tRNA 的反密码子和 mRNA 上密码子的配对是在核糖体上进行的，通过这种配对，就可使特定的氨基酸连接到多肽链的一定部位。

tRNA 除以其反密码子识别 mRNA 的密码子外，还必须携带氨基酸，即在 tRNA 连接柄的 3′CCA 末端挂上相应的氨基酸，但一种氨基酸要结合到特定的 tRNA 上，还必须通过氨酰基 tRNA 合成酶的催化。每一种氨基酸至少有 1 种氨酰基 tRNA 合成酶，尽管它们的功能相同，但在蛋白质结构上却有很大的差别。目前已分离纯化了150 余种不同来源的氨酰基 tRNA 合成酶，它们在分子大小、亚基结构等方面都不相同。一种氨酰基 tRNA 合成酶如何识别代表该氨基酸的一套 tRNA，是蛋白质与核酸相互作用的关键问题。近年愈来愈多的资料表明，识别的基础不仅限于 tRNA 的一级和二级结构，还涉及到 tRNA 的一些细微的分子结构。氨酰基 tRNA 合成酶既要能识别 tRNA，又要能识别氨基酸，它对两者都具有高度的专一性。

氨基酸结合到 tRNA 上的反应称为负载反应。负载反应的第一步是氨基酸的激活，变为氨酰基形式。第二步反应是氨酰基同其专一的 tRNA 载体结合，形成氨酰基 - tRNA。这两步反应都是由同一种氨酰基 tRNA 合成酶所催化。氨基酸激活所需的能量是由 ATP 水解提供的。在第一步反应中，氨酰基 tRNA 合成酶催化合成氨酰基 - 腺苷酸，这是一种高能的中间产物，它一直和酶结合在一起，直到在第二步反应中氨酰基的羧基结合到 tRNA 的 3′端的 A 核苷酸上，才与酶分开(图 14 - 40)。

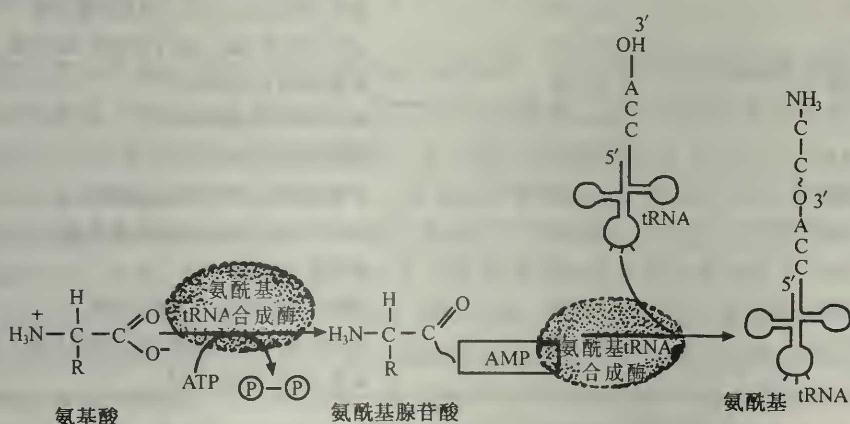


图 14 - 40 游离氨基酸在参加蛋白质合成之前，需先提供能量和形成氨酰基 tRNA
这两步反应均由同一种氨酰基 tRNA 合成酶所催化。第一步，氨基酸被激活，用 ATP 水解所提供的 AMP 结合氨酰基 - 腺苷酸。在第二步反应中，氨酰基和 tRNA 的 3′-OH 端结合，AMP 被释放

二、与肽链合成有关的可溶性蛋白质因子

在新肽链的产生时，除必须有 mRNA 模板、tRNA 和核糖体外，翻译的起始、延伸以及终止，都各需要蛋白质因子的参与。

(一)起始因子(initiation factor)

起始因子的作用主要是在多肽链合成过程中帮助起始三元复合物的生成。这些起始因子不同于核糖体结构蛋白，它们是在蛋白质生物合成过程中周期性地与核糖体结合，又周期性地从核糖体上解离下来。许多起始因子只是瞬时性地与核糖体小亚基结合，在小亚基 - mRNA - 甲硫氨酸 - $tRNAi^{met}$ 这一三元复合物的形成中起到某种媒介作用，随后在这一复合物与 60S 大亚基结合形成完整核糖体之前，或在这一结合

进行中它们就释放出来。

原核生物有 3 种起始因子，即 IF-1、IF-2 和 IF-3。其中 IF-1 似无专一功能，只能促进 IF-2 和 IF-3 的活性。但近年亦有报道 IF-1 可能促进 50S 亚基参加到 70S 核糖体的组构中去。IF-2 能协助 fMet-$tRNA^{fmet}$ 有选择地与 30S 亚基结合，进入 P 位，是翻译起始中关键的一步。当 30S 亚基存在时，IF-2 有很强的 GTPase 活性。IF-3 促进 mRNA 与 30S 亚基结合并有保持 30S 亚基稳定性的作用。

真核生物翻译起始因子 eIF(e 表示真核生物)数量较多(表 14－6)，有些还有亚基结构。其中 eIF-2 与 GTP、Met-tRNA 生成三元复合物 eIF2 · GTP · Met-RNA。(eIF-2 由 3 个亚基 α、β、γ 组成，α 亚基与 GTP 结合，β 连接 Met-tRNA，γ 功能还不详)。eIF-2B 负责 eIF-2 的 GTP 循环。eIF-3 分子很大，哺乳动物的 eIF-3 有 8 个亚基，它的作用类似于原核中的 IF-3。其他 eIF 因子功能尚不太清楚。

表 14－6　真核生物翻译的起始因子

起始因子	相对分子质量	主要功能
eIF-1	1.5×10^4	使 40S 起始复合物稳定等多重作用
eIF-2	1.2×10^4	形成 GTP-Met-tRNA 三元起始复合物
eIF-2A	6.5×10^4	AUG 存在下，Met-tRNA 结合于 40S 亚基
eIF-2B	6.5×10^4	促进 eIF-2 的再利用
eIF-3	7.0×10^4	促进 40S 小亚基的形成
eIF-4A	5.0×10^4	辅助 mRNA 结合
eIF-4B	8.0×10^4	识别 mRNA，具有 ATPase 活性
eIF-4C	1.9×10^4	与 40S 结合，促进 80S 复合物形成
eIF-4D	1.7×10^4	激活第一个肽键合成
eIF-4E	2.4×10^5	“帽子”结合蛋白，识别帽子结构
eIF-5	1.5×10^5	与 60S 亚基结合，促使 40S 起始复合物上的各种 eIF 因子游离下来

(二)延伸因子(elongation factor, EF)

原核生物有 3 种延伸因子：EF-Tu、EF-Ts 和 EF-G。EF-Tu 的功能是负责把氨酰基 tRNA 带入到大亚基的 A 位，在存在 GTP 时与氨酰基 tRNA 形成稳定复合物 EF-Tu · GTP · 氨酰基 -tRNA。由于 EF-Tu 只能和 fMet-$tRNA^{met}$ 以外的氨酰基 tRNA 结合，从而保证了起始 tRNA 携带的 fMet 不会进入肽链内部，在 mRNA 内的密码 AUG 只对应甲硫氨酸。EF-Ts 是使 EF-Tu · GDP 生成 EF-Tu · GTP 再重新参加肽链的延伸。EF-G 则是在延伸机制中负责转位，即当肽链增加一个核苷酸后，肽基－tRNA 从 A 位移到 P 位，这个过程需要 EF-G 和 GTP。它是一种依赖于核糖体的 GTPase，能使 GTP 水解。

真核生物中的延伸因子分别为 EF1、EF2。EF1 又可分为两种，即 $EF1_{\alpha}$ 和 $EF1_{\beta\gamma}$，$EF1_{\beta\gamma}$ 是一个异源多肽复合物，即由 1 条 $EF1_{\beta}$ 链和 1 条 $EF1_{\gamma}$ 链组成。$EF1_{\alpha}$ 相当于原核生物的 EF-Tu，$EF\text{-}1_{\beta\gamma}$ 则可能相当于 TF-Ts。至于 EF2 相当于原核生物的 TF-G。在酵母和真菌中发现它们的核糖体还需有 EF3 才能翻译。

(三)释放因子(release factor, RF)

释放因子的功能是识别 mRNA 上的终止密码,终止肽链合成并释放核糖体。原核生物中的释放因子有三种:即 RF-1、RF-2 和 RF-3。RF-1 能识别 UAA 和 UAG, RF-2 识别 UAA 和 UGA。RF-3 并不能识别终止密码,而可能是以一种非特异的方式促进 RF-1 和 RF-2 的功能。释放因子行使功能需要 GTP。

真核生物只有 1 种释放因子 RF,对 3 个终止密码都能识别。

三、多肽链的合成过程

前面已简略地介绍了有关肽链合成中几种成分的作用,在多肽链合成过程中,这些成分是以核糖体为基地,经过多步反应,才翻译出多肽产物。

(一)翻译的起始

蛋白质的生物合成是以氨基酸为基本材料的,参与多肽链起始或延伸的氨基酸只有在氨酰基-tRNA 合成酶作用下生成活化的氨基酸,即形成保留有 ATP 的氨酰基-tRNA 后才能被准确地运送到核糖体上进行多肽链合成(见图 14-40)。

多肽链的合成是由 N-末端向 C-末端进行翻译的。J. Waller 1963 年就发现,大肠杆菌的蛋白质中有 45% 的 N-末端氨基酸是甲硫氨酸,其他蛋白质则仅少数几种氨基酸在这一位置上。这说明,蛋白质合成起始要求具备一些特殊条件。

mRNA 在核糖体上翻译的过程是由 AUG 密码子开始的,它可被特定的甲酰甲硫氨酸-tRNA 的反密码子所识别。甲酰甲硫氨酸是甲硫氨酸的一种衍生物。所以,生物体内实际上存在两种 $tRNA^{Met}$,但其中一种 $tRNA^{fMet}$ 可使同其结合的甲硫氨酸甲酰化,形成甲酰甲硫氨酸,而且只有甲酰甲硫氨酸-$tRNA^{fMet}$ 能同肽链起始密码子 AUG 配对结合,开始肽链合成。而另一种甲硫氨酸-tRNA 只能同 mRNA 内部的 AUG 密码结合参与到正在延伸的肽链中去。至于这两种 tRNA 是怎样能分别识别不同位置的 AUG 的机制还不清楚。另外,尽管在原核生物中一个 mRNA 模板上可以有几个 AUG 起始位点,可是多肽合成始终只从靠近核糖体结合位点的那一个 AUG 起始。真核生物 mRNA 上则只有 1 个功能性的 AUG 起始位点。起始 AUG 往往直接位于一段与 16S rRNA 互补序列之后,易于识别。此序列为由 5~10 个核苷酸组成的 Shine-Dalgarno(SD)序列。

线粒体和叶绿体同原核生物一样,其核糖体上合成多肽链都是由 N-甲酰甲硫氨酸起始,真核细胞中则是由甲硫氨酸起始。

原核生物翻译起始时是由核糖体的 30S 小亚基同 mRNA 结合后发生的。由小亚基、mRNA 和甲酰甲硫氨酸-tRNA 先形成起始复合物(图 14-41)。此时 3 种起始因子 IF-1、IF-2、IF-3 和 GTP 也先后参与起始复合物。IF-2 的功能是促使甲酰甲硫氨酸-tRNA 同 30S 亚基-mRNA 复合物结合。IF-2 具有 GTP 酶活性,这表明,起始物氨酰基-tRNA 与 30S-mRNA 相结合的第一步可能是与 IF-2 和 GTP 相结合有关。30S 亚基具有专一识别和选择 mRNA 起始位点的性质,而 IF-3 能协助 30S 亚基完成这一选择功能;另外它还可使 70S 单体分解成 30S 和 50S 亚基。IF-1 在起始复合物形成中的作用还不清楚,可能是辅助 IF-2 和 IF-3 功能的发挥。用 Sephadex G-100 凝胶过滤或蔗糖梯度离

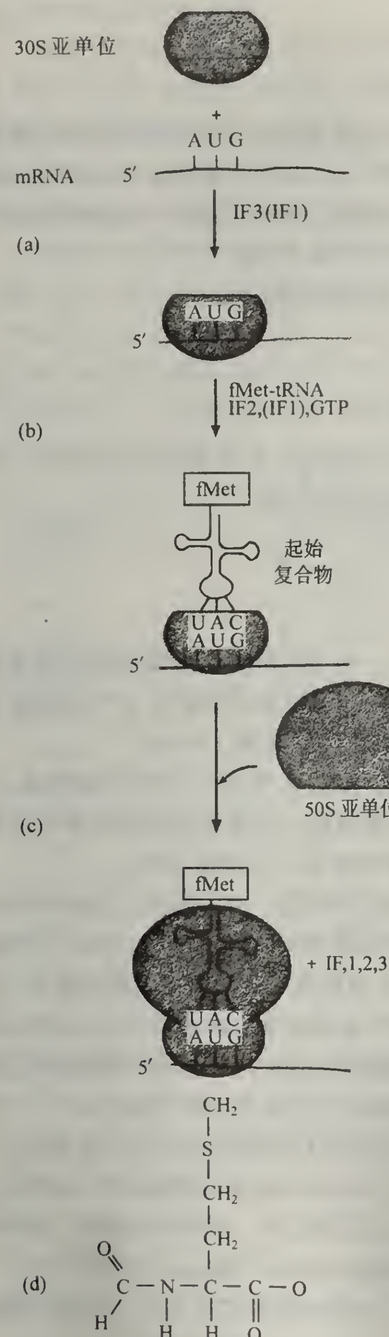


图 14－41　蛋白质合成中在核糖体上起始复合物的形成

(a) 在起始因子 IF-3(可能还有 IF-1) 的作用下，mRNA 结合到 30S 亚基上；(b) 在 IF－2 和 GTP(可能还有 IF－1) 的作用下，起始氨酰基－tRNA 和 30S 亚基·mRNA 复合物相结合，形成起始复合物；(c)50S 亚基结合到起始复合物上，多肽链延长，3 种起始因子由 70S 核糖体上释放出来；(d) 甲酰甲硫氨酸分子式。在原核生物中，起始氨酰基－tkNA 携带的是 N－甲酰甲硫氨酸(fMet)，而在真核生物中则携带甲硫氨酸(Met)

心法可以分离到这种 30S 的起始复合物。

30S 亚基识别和选择 mRNA 是通过其 16S rRNA 3′端的富含嘧啶区 5′-ACCUCCUU-3′序列与 mRNA 的 SD 序列 5′-AGGAGGU-3′相互补。这两个互补序列的配对使起始密码子 AUG 能与起始 tRNA 的反密码子结合。一些实验还表明互补的核苷酸与 AUG 之间的距离也很重要，可影响到 mRNA－核糖体复合物的生成和稳定，一般以相距 7±2 个核苷酸为佳。

在 30S · mRNA · fMet-tRNA$^{f\,Met}$ 起始复合物形成之后，50S 亚基才参加进去，生成 70S 起始复合物。这时，起始因子就从 70S 核糖体上释放出来，完成肽链合成的起始过程，而 70S 核糖体则继续参加肽链的生成。

真核生物蛋白质生物合成的起始机制与原核生物基本相同，只是真核生物 mRNA 5′端具有甲基化“帽子”结构；且起始因子较多，形成起始复合物的步骤也要多一些，Met-tRNA^{Met} 不甲酰化，mRNA 常是单顺反子，核糖体也较大。在翻译起始时 Met-tRNAi^{Met} 先和 40S 亚基结合，然后才结合 mRNA(图 14－42)。目前已知至少有 8 种起始因子参与 80S 起始复合物的形成，其中 eIF-2、eIF-3 和 eIF-5 是不可或缺的；eIF-1、eIF-4A、eIF－4B、eIF-4C 和 eIF-4D 对起始复合物的形成有促进作用，但却不是必需的。此外，还有其他的蛋白质因子参与起始过程，如辅助因子 Co-eIF-2A、Co-eIF-2B、Co-eIF-2C、eIF-2 激活蛋白、mRNA 抑制因子等。

有实验说明真核生物 mRNA5′末端的“帽子”能促进起始反应。因为核糖体上有专一位点识别 mRNA

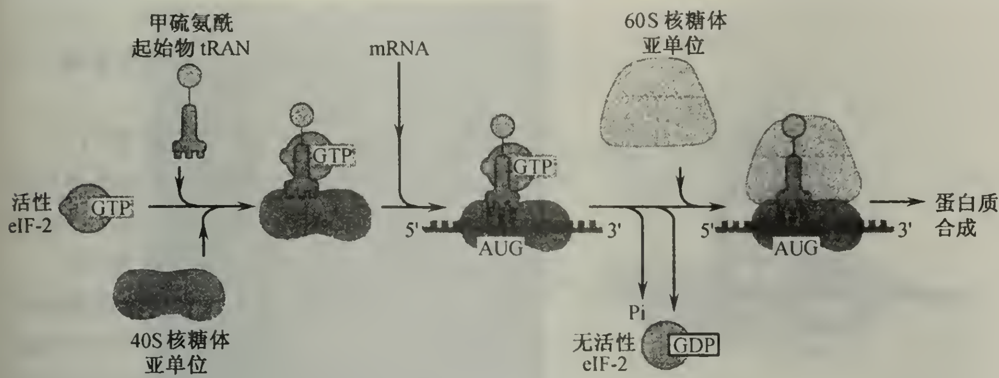


图 14 – 42　真核生物多肽合成起始的图解(说明见正文)

的"帽子",使 mRNA 与核糖体结合。"帽子"在 mRNA 和 40S 亚基结合过程中还起稳定作用。40S 起始复合物形成过程中有一种帽子结合蛋白(cap binding protein, CBP),能专一地识别 mRNA 的"帽子"结构,与 mRNA 的 5′端结合,生成蛋白质 – mRNA 复合物,然后,由于 CBP 对 eIF-3 的亲和力使这个复合物与带 eIF-3 的 40S 亚基结合。40S 起始复合物生成后, CBP 才被释放出来。除帽子结构外, 40S 亚基还能识别 mRNA 上的 AUG 起始密码子,从而导致 40S 小亚基与 mRNA 结合。1989 年 M. Kozak 曾提出扫描模型(scanning model)来解释 40S 亚基对 mRNA 上起始密码子的识别。按照这个模型, 40S 小亚基在与 mRNA 结合之前, Met-$tRNA^{fMet}$ 先和 40S 亚基结合,然后这个复合物可以沿 mRNA 5′非翻译区向 3′端滑动,以搜寻起始 AUG 密码子,到达 AUG 位后发生较稳定的相互作用,最后与 60S 亚基结合,一起生成 80S 起始复合物。同时,由于 eIF-5 的作用,把结合在原来 40S 亚基上的 eIF-2-GDP 释放出来,进入再利用循环。

(二)肽链的延伸与翻译终止

1. 肽链的延伸

核糖体有三个部位(A 位,P 位和 E 位)适合于接纳 tRNA。其中 A 位和 P 位与氨基酸间形成肽键有关,而 E 位是释放 tRNA 的部位。因此,核糖体只同时结合两个 tRNA (图 14 – 43)。多肽合成起始时,第一个氨基酸 – 甲酰甲硫氨酸结合在核糖体的 P 位,但 A 部位还空着,第二个氨酰基 tRNA 在延伸因子 EF-TU 和有 GTP 的情况下,构成氨酰基 -tRNA · EF-Tu · GTP 复合物,然后进入到核糖体的 A 位上。随之, GTP 被水解, EF-Tu-GDP 被释放并经 EF-Ts 及 GTP 作用,成为 EF-Tu · GTP 复合物参加另一轮氨酰基 – tRNA 的循环。

核糖体上 A 部位接纳哪一种类的氨酰基 – tRNA, 要由 A 部位上所暴露的 mRNA 密码子来决定。A 部位一旦被占据,在肽基转移酶催化下,P 部位与 tRNA 所携带的甲酰甲硫氨酸(或肽链)与 A 位上 tRNA 带的氨基酸间便形成了肽键,在 P 位上不携带氨基酸的 tRNA 即被释放, 由于催化移位的蛋白质因子 EF-G(原核) 或 EF-2(真核) 和 GTP 的作用,A 位上的肽基 tRNA 便转移到 P 部位。A 位空出后,核糖体即由 5′→3′的方向移动 1 个三联密码,因而核糖体的 A 部位又可接受 1 个氨酰基 tRNA,并按上述方

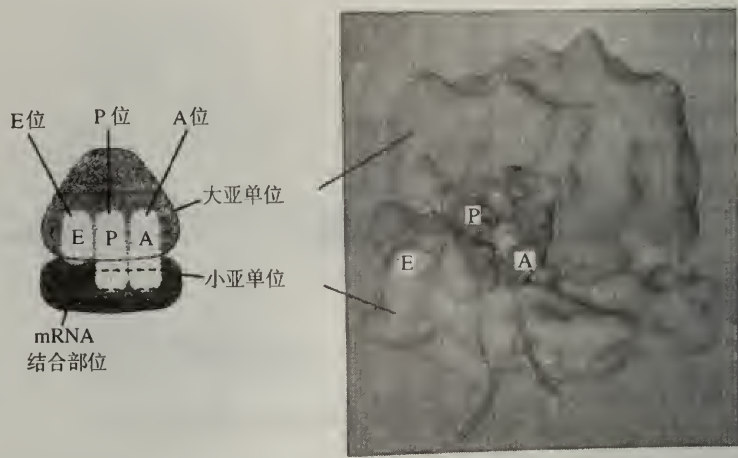


图 14－43　核糖体中结合 tRNA 的部位

核糖体具有 3 个可同 tRNA 结合的部位（A，P，E）和一个结合 mRNA 的部位（虚线矩形框所示），右侧图为原核生物核糖体立体结构模型

式再次建立肽键，如此循环，肽链即不断延长（图 14－44）。肽基转移酶是核糖体大亚基上的一个区域，L6、L11 和 L16 等许多蛋白质都与酶活性有关。移位过程是一个需能反应，所以要有 GTP 水解。

多肽链的合成是由核糖体、mRNA 和 tRNA 三者密切配合完成的。肽链的延伸是由许多循环组成，每次循环都要有延伸因子的参与。原核生物的延伸因子有 TF-Tu、TF-Ts 和 EF-G，真核细胞需 EF-1 和 EF-2。一个循环要消耗两个 GTP，以向生长中的肽链加上 1 个氨基酸。多肽链一边生长延伸，一边便根据其氨基酸的特定顺序，装配成了一定的三维构型。

2. 翻译的终止

多肽链合成完毕即从核糖体上释放出来。mRNA 中有 UAA、UAG 和 UGA 是合成终止的信号。当 mRNA 上出现任何一个终止密码时，即没有相应的 tRNA 与之结合，这些密码子是由释放因子（release factor, RF）来识别并结合。原核生物有 3 种释放因子：RF Ⅰ、RF Ⅱ、和 RF Ⅲ，真核生物中只发现一种释放因子——eRF。RF Ⅰ和 RF Ⅱ能识别终止密码，并与之结合，于是便阻止另外的氨基酸－tRNA 进入核糖体的 A 部位。另一释放因子（RF Ⅲ）便激活肽基转移酶，活化的肽基转移酶的专一性被释放因子所改变，不再催化形成肽键，而是催化 P 位上多肽键和 tRNA 之间的键水解断开，从而使新生的多肽链和 tRNA 从核糖体上释放出来。释放因子 RF 具有 GTPase 的活性，催化 GTP 水解，使肽链解离以及促使核糖体分解为大、小亚基并离开 mRNA，又可参加形成新的起始复合物，起始合成另一条肽链。

四、新生蛋白质的加工

由 mRNA 翻译合成的多肽链，大多数是没有功能的，而必须经过加工修饰之后才能成为有功能的蛋白质。就目前所知，新生肽链的改造是经过多种方式进行的。

(一)新合成的多肽链的修饰

(1)脱甲酰基:新合成的肽链首先通过脱甲酰基酶去除氨基端的甲酰基，并由氨肽酶再去掉1个或几个N端氨基酸。

(2)胱氨酸的特化:在蛋白质中除连接氨基酸残基的肽链外,还常含有二硫键。但mRNA中并无胱氨酸的密码子，而是由肽链中两个半胱氨酸残基侧链的硫氢基氧化为二硫键形成的。

(3)侧链的改造:新生肽链中有些氨基酸的侧链常须经过专一性的改造，如胶原中脯氨酸和赖氨酸的羟基化，糖蛋白主要是通过蛋白质侧链上的天冬氨酸、丝氨酸和苏氨酸残基与糖基结合而形成。这种侧链的修饰还包括核糖核蛋白的磷酸化，组蛋白、肌蛋白的甲基化以及组蛋白的乙酰化等等。

(二)新生多肽链中非功能性片段的剪切

在新生的肽链中有时还包含非功能性片段必须切除，才能成为有功能的成熟蛋白质。如胰岛素前体经切去信号肽变成胰岛素原，再切去C－肽才可成为有活性的胰岛素。又如血纤维蛋白原、胰蛋白酶原等一些多肽类激素和酶的前体也都要经过加工，切去部分肽段后才转变成有活性的血纤维蛋白、胰蛋白酶等。另外,有些动物的mRNA则可翻译成很长的多肽，其中含有多个有功能的肽段，也必须由专一性的蛋白质水解酶在特定位置上将这类新产生的多肽链切成几段,重新连接,变成有功能的蛋白质。这些处理是在高尔基池中进行的。

20世纪80年代末、90年代初以来在古细菌、真细菌和单细胞真核生物中陆续发现蛋白质水平上的剪接现象。蛋白质在成熟过程中，前体蛋白的肽链切除了一些氨基酸序列,这些被切除的序列称为“内含肽”(intein)。内含肽切去后,两侧剩余的氨

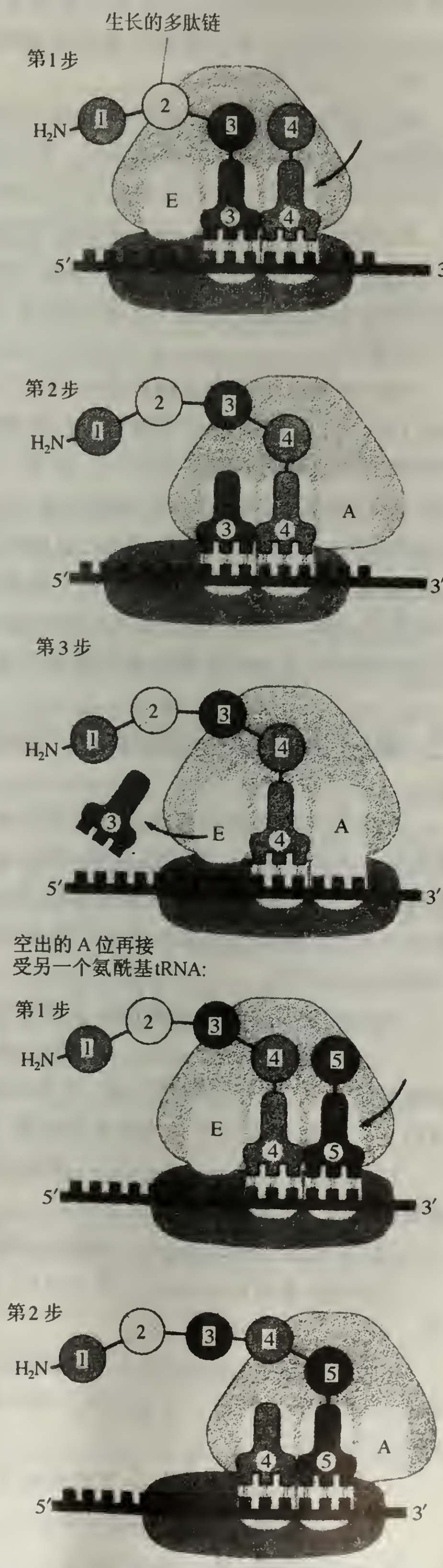


图 14－44　多肽链的延长

基酸序列重新连接起来，成为成熟的蛋白质产物。这些氨基酸序列则称为“外显肽”(extein)。被切下的内含肽多半也是有功能的蛋白质。这样，前体蛋白质经切割可产生两个或多个蛋白质分子。

蛋白质剪接最初是发现于对酵母 ATP 酶基因的研究中。这个基因的转录产物首先翻译成 1 个 119 000 的前体蛋白，这个前体蛋白经过剪接，去掉中间 400 多个氨基酸长的序列，然后两边的氨基酸序列首尾相接，形成一个 69kD 的成熟蛋白分子。以后，又在结核分支杆菌的 recA 基因和嗜热原生生物的 DNA 聚合酶基因翻译产物中发现了类似情形。前者的 RecA 前体蛋白中含有 1 个蛋白质内含肽，后者的 DNA 聚合酶前体蛋白中则含有 2 个蛋白质内含肽，它们都是在翻译后经过蛋白质剪接而从前体蛋白中切除的。

对已经发现的蛋白质内含肽序列进行比较，它们的 N 端和 C 端有明显一致的结构域(motif)，尤其 C 端更为保守。在剪接部位氨基酸残基的定点突变实验中，发现这些残基的改变将影响到剪接进行。使蛋白质内含肽中产生缺失或移码，但不改变内含肽以外区域的阅读框，翻译产物就不能正常进行剪接。有实验把结核分支杆菌编码内含肽的 DNA 片段插入 *LacZ* 基因，也能得到正常大小的蛋白质内含肽产物，并检测到 LacZ 基因产物的活性，说明发生了正确的剪接。这些实验结果表明蛋白质剪接可能是自然催化过程。但是，由于至今发现的蛋白质剪接现象还较少，究竟肽链如何断裂、新肽键怎样形成以及新肽键形成所需能量的来源如何，都还有待研究。

五、蛋白质合成的抑制剂及作用原理

许多抗生素对蛋白质的合成有抑制作用，如链霉素、四环素、氯霉素、红霉素、嘌呤霉素等。此外，如 5－甲基色氨酸、环已亚胺、蓖麻蛋白以及其他核糖体灭活蛋白等也能抑制蛋白质的合成。这些抑制剂在蛋白质合成过程中作用的环节不一样，作用的效果也不相同，因而这些抗生素等试剂不仅可用于探讨蛋白质合成机制，也可有针对性地用作临床药物。

抗生素对蛋白质合成抑制的作用原理，如：

(1)链霉素(stroptomycin)：这是一种碱性三糖，可与核糖体 30S 亚基结合形成异常起始复合物，抑制蛋白质合成。已有实验证明，链霉素敏感位点是在 30S 亚基的 S12 蛋白上。链霉素也可引起遗传信息错读，使错误在蛋白质中积累，导致细菌死亡。

(2)氯霉素(chloramphenicol)：抑制细菌、线粒体、叶绿体的 70S 类型核糖体肽基转移酶的活性，使肽键不能形成。

(3)红霉素(erythromycin)：抑制核糖体在 mRNA 上的易位(translocation)反应。

(4)利福霉素(rifamycin)：可与 RNA 聚合酶结合，抑制 RNA 链起始，阻碍 RNA 合成。

(5)嘌呤霉素(purmycin)：是氨酰基－tRNA 类似物，可进入核糖体 A 位，同已合成的肽链形成肽键，生成多肽－嘌呤霉素链从核糖体上释放，阻止了肽链继续合成和延长。

(6)四环素(tetracycline)：抑制氨酰基 tRNA 与核糖体 A 位的结合。

(7)梭链孢酸(fusidic acid)：与 EF-G 结合之后，抑制 EF-G 引起的移位。

(8)放线菌素 D(actinomycin D)：可插入 DNA 的碱基之间(特别是 GC 对丰富区)，阻碍 RNA 聚合酶移动，抑制 RNA 的合成。

(9)稀疏霉素(sparsomycin):可与核糖体大亚基结合,抑制肽基转移酶反应。

(10)放线菌酮(cycloheximide):抑制80S核糖体移位酶的活性,阻止肽基-tRNA由A位移向P位。对70S核糖体无效。

(11)鹅膏蕈素(α-amanitine):是毒蘑中的肽类毒素,可使RNA聚合酶Ⅱ和Ⅲ失活,抑制RNA形成。聚合酶Ⅱ在低浓度(1μg/ml)时失活,聚合酶Ⅲ在高浓度(100μg/ml)时失活。

(12)茴香酶素(anisomycin):主要是阻断80S核糖体上的肽基转移酶反应。

在上述各种蛋白质合成抑制剂中,四环素、嘌呤霉素、放线菌素D和稀疏霉素对原核和真核生物的蛋白质合成均有抑制作用,而鹅膏蕈素、放线菌酮和茴香霉素只阻扰真核细胞的蛋白质合成,其他几种则均为原核生物蛋白质合成的抑制剂。

第五节　蛋白质合成的调节

无论是原核生物还要真核生物,要维持细胞的结构和发挥特有的功能均依赖于特定蛋白质的合成。因此,蛋白质合成的变化必然会对细胞功能活动产生深刻的影响。

蛋白质合成的调节实质上是基因表达的调节。在细胞生命活动中,基因表达的调节起着两方面的作用:一是导致细胞分化,二是维持细胞的功能活动。不论是单细胞生物还是多细胞生物,都是通过分化过程产生执行特定功能的细胞,例如,细菌形成孢子;蓝细菌形成异形细胞(heterocyst);多细胞生物受精卵发育出特化细胞、组织和器官等变化,都与分化有关。分化的多样性是生物体向着更高水平进化的反映。

调节基因表达另一方面的作用是维持细胞的功能活动。有机体要生活下去,就得对环境的变化随时发生适当的反应,例如,ATP因种种原因被耗尽,这种状况可引起反作用,或是刺激ATP产生过程,或是抑制利用ATP的过程,这些过程都和酶的合成有密切的关系。这时,有些酶要加速合成,有些酶的合成则需停止,有些酶因合成了蛋白质抑制物而失活。这些变化的总趋势是使ATP的量能适应于细胞活动的需要。

蛋白质合成的调节是一种极复杂的过程,基因表达调节可发生在不同的水平上:DNA复制水平、DNA转录水平以及转录的翻译水平上。关于蛋白质合成在复制水平上的调控,最明显的例证是真核生物中的基因扩增现象。

一、原核生物中蛋白质合成的调控

原核生物和真核生物在蛋白质合成方面都存在着转录水平上的调控,只是二者的调控机制有所不同。转录是原核基因表达的主要调控点,有关原核生物的转录调节也是研究得比较详细的。

(一)操纵子是细菌代谢的重要调节机构

大肠杆菌的乳糖代谢需要半乳糖苷酶(β-galactosidase)的催化,把乳糖水解为半乳糖(galactose)和葡萄糖(glucose):

$$\text{乳糖} + H_2O \xrightarrow{\beta-\text{半乳糖苷酶}} \text{半乳糖} + \text{葡萄糖}$$

如果供大肠杆菌生长的培养基中的碳原不是乳糖,而是葡萄糖等其他糖类,那么细胞内的β-半乳糖苷酶的分子极少,一般不超过10个。可是一旦把培养基中的碳源

用乳糖取代葡萄糖，则在几分钟内，细胞就会合成大量新的 β－半乳糖苷酶分子，其数量骤增几倍到上千倍，高达 3000 多个。显然，新合成的 β－半乳糖苷酶是在底物乳糖的诱导下产生的。因此，乳糖是合成 β－半乳糖苷酶的诱导物，而 β－半乳糖苷酶是可诱导酶(inducible enzyme)。细胞内伴随着 β－半乳糖苷酶的合成，同时还会有半乳糖苷透性酶 (galactoside permease) 和硫基半乳糖苷转乙酰酶 (thiogalactoside transacetylase)的合成。半乳糖苷透性酶是一种膜蛋白，可协助乳糖分子穿膜进入细胞内，至于硫基半乳糖苷转乙酰酶在乳糖代谢中的作用尚不清楚。从上述现象来看，大肠杆菌中存在着一种能诱导这 3 种酶快速合成的调节机制。

为解释上述现象，1960 年 F. Jacob 和 J. Monod 提出了基因表达调控的操纵子学说(operon hypothesis)。实验证明，为 β－半乳糖苷酶、半乳糖苷透性酶和硫基半乳糖转乙酰酶这 3 个蛋白质编码的基因是依次串连排列的，被分别命名为 *Z*、*Y*、*a* 基因，合称为乳糖结构基因(lac structural gene)。操纵子学说主张，乳糖结构基因的转录要受另外 3 个基因的控制，它们是调节基因 (regulator gene) (i)、启动基因 (promoter gene)(p)和操纵基因(operator)(0)。其中启动基因和操纵基因均位于乳糖结构基因的前方，彼此连接，它们和 Z、Y、a 共同组成乳糖操纵子(lac operon)。调节基因位于操纵子附近，是一抑制位点 (inhibitory site, i)，是一个独立的转录单位，它有自己的启动子，调节基因的表达产物为阻遏物(repressor)蛋白，故该基因又称阻遏物基因。对阻遏物的分离、纯化实验查明，lac 阻遏蛋白有 4 个相同的亚基，各含有 347 个氨基酸残基。每一阻遏物亚基都具有一个诱导物结合部位，与诱导物相结合后即发生构象变化，不能再同操纵基因相结合。

乳糖结构基因是否转录形成 mRNA 要受操纵基因的控制，而阻遏物是否同操纵基因相结合，则决定着基因是开启还是关闭。具有活性的阻遏物只要结合到操纵基因上，即可封阻 RNA 聚合酶的转录活动(图 14－45a)。实际上，P 和 0 有一定的重叠，当 0 被阻遏物占据时，RNA 聚合酶也就不可能同 P 结合起来催化转录。阻遏物是否具有活性又受诱导物 (乳糖) 的影响。乳糖存在时，细胞中产生一种小分子，即别构乳糖(allolactose)。有关的研究发现，在乳糖操纵子中真正的诱导物是乳糖的这种异构体。当别构乳糖与阻遏物结合时，发生构象变化，使之不再能同操纵基因结合，于是 RNA 聚合酶即可从启动子起动，合成 lac mRNA, mRNA 又被翻译为蛋白质(图 14－45b)。

酶合成的这条调节途径称为酶诱导。在这条途径中诱导物可以影响阻遏物的活性，它是一种效应物(effector)。

有的蛋白质的合成可以通过阻遏的途径来调节。在这种情况下，没有效应物，酶的合成便不会出现阻遏，因为调节基因产生的阻遏产物单独存在时无活性，不能抑制转录。如果有效应物存在，则形成阻遏物－效应物的复合物。这样，阻遏物发生构象变化产生活性，能结合到操纵基因上阻止 RNA 聚合酶催化结构基因的转录。这时，效应物就称为辅阻遏物(corepressor)。

辅阻遏物是酶所催化的最终产物。由于反应产物的存在而使合成受抑制的酶，称为可阻遏酶。例如大肠杆菌中色氨酸的生物合成就受培养基中色氨酸的影响。如果向培养基中加入高浓度的色氨酸，则色氨酸合成受到抑制。

色氨酸的生物合成共有 5 个步聚，每一步骤各由一种酶来催化，这 5 个酶是：色氨酸合成酶 (trp A, trp B)、吲哚甘油磷酸 (indoleglycerophosphate, IGP) 合成酶 (trp

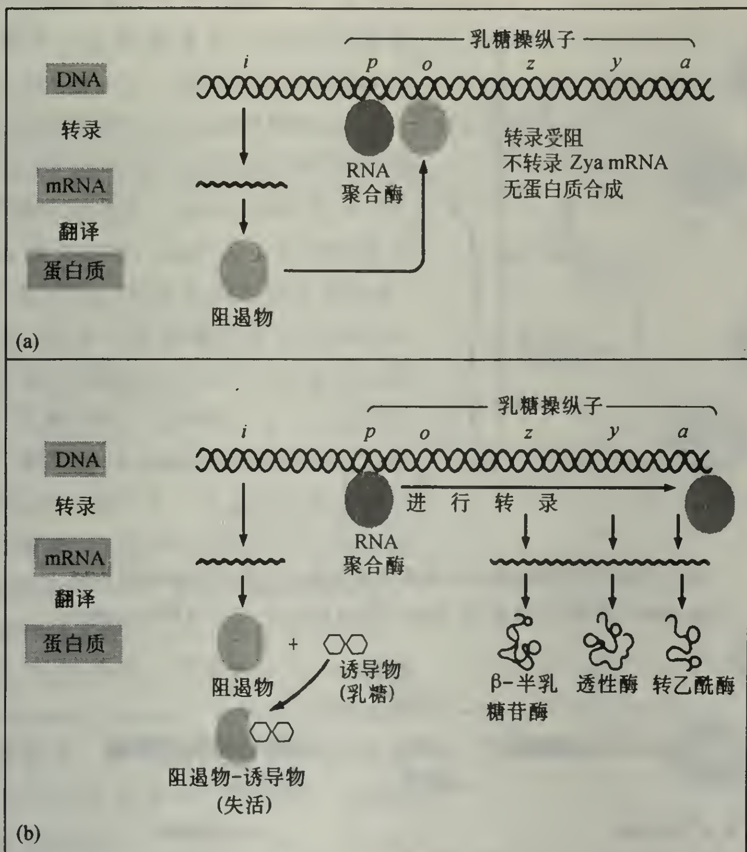


图 14－45　乳糖操纵子中可诱导酶合成的转录控制

C)、磷酸核糖基邻氨基苯甲酸转移酶(phosphoribosyl anthranilate)(trp D)和邻氨基苯甲酸合成酶(trp E)。为这 5 种酶编码的 5 个基因紧密连锁，组成一个操纵子。在没有色氨酸时，trp 操纵子的阻遏物无活性，不能与操纵基因结合。当色氨酸增加时，它可和阻遏物结合，激活了阻遏物，因而阻遏物可同操纵基因结合，抑制了这 5 个基因转录。在这条途径中，最终产物（色氨酸）对阻遏物的阻遏功能起了辅助作用，故最终产物称为辅阻遏物(图 14－46)。由于像色氨酸这样的物质是反应的最终产物，产量过多则引起催化酶的合成受到抑制，色氨酸浓度愈高，催化酶的合成速率愈慢，结果色氨酸的合成速率也就愈慢(图 14－47)。由此可见，色氨酸操纵子是通过一种反馈机制，使色氨酸的浓度维持在一定的水平。

关于乳糖操纵子学说在许多方面已为实验所证实，且已分离出了乳糖阻遏物和乳糖操纵基因，前者系由 4 个亚基(每个的相对分子质量为 37 000)组成的蛋白质，后者是由 21 个核苷酸组成的序列，而且已证实乳糖阻遏物能同操纵基因和诱导物分子相结合。

上述的两种阻遏途径，所不同的是，诱导物能使阻遏物不同 DNA 结合，促进转录，而辅阻遏物则能促使阻遏物同 DNA 结合，阻止转录。但诱导和阻遏两种途径有一个共同点，即阻遏物同 DNA 结合，就起阻遏作用。调节基因产生阻遏物的作用在于阻止转

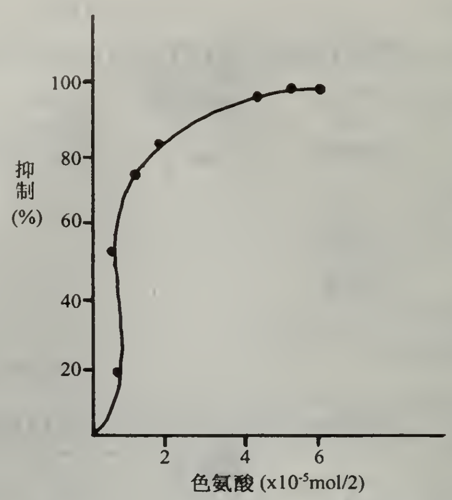


图 14－46　色氨酸浓度对邻氨基苯甲酸合成酶合成速率的影响

开始合成时,培养基中含有 10^{-2}md/l 谷氨酰胺和 10^{-5} 的分支酸(chorismate)

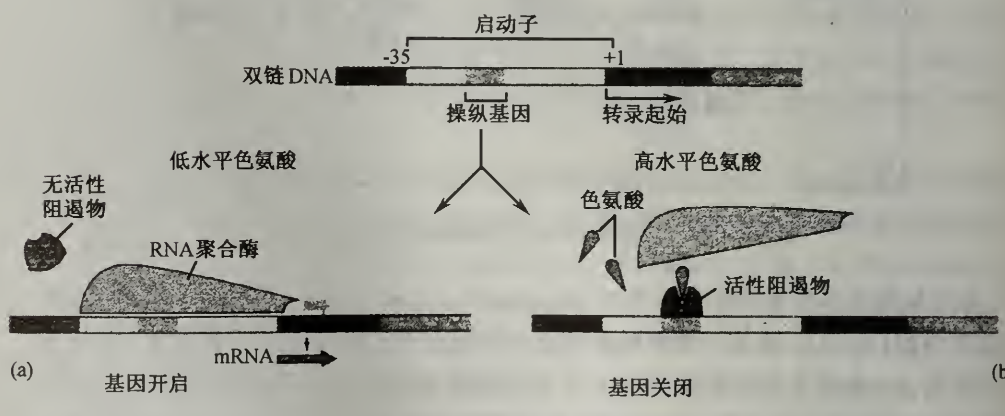


图 14－47　可阻遏的转录调节

(a)无活性阻遏物单独存在时,不能同 DNA 结合,转录继续进行;(b)无活性的阻遏物与产物结合,形成的复合物即可同 DNA 结合,封闭起来

录,这种作用原理称为负控制(negative control)。总之,操纵子学说的中心思想是主张存在着短寿命的 mRNA,在其产生后的短时间内被用来进行翻译,因而蛋白质合成可在转录水平上受到快速调节。

(二)CAP 蛋白结合 cAMP 对转录进行控制

在大肠杆菌中还发现有一种分子的作用与阻遏物相反,当它结合到操纵子的适当部位上时,可启动转录。这种调节机制属于正控制(positive control)。

大肠杆菌培养基中,如果以葡萄糖为能源,其蛋白质合成速率比用其他糖类要快,生长迅速。如果在细菌培养基中含有葡萄糖和其他的糖(如乳糖、半乳糖、阿拉伯糖等),细胞只分解利用葡萄糖,而不利用其他的糖。因此,培养基中只要有葡萄糖存在,

便抑制了利用其他各种糖的酶的产生，如β－半乳糖苷酶等，这种现象称为分解物阻遏(catabolite repression)。1965年，B. Magasonik偶然发现大肠杆菌中含有cAMP(图14－48)，而且胞内cAMP的浓度与培养基中的葡萄糖有关，葡萄糖浓度愈高，胞内cAMP愈少。以后，I. Pastan等又发现，cAMP同分解物阻遏现象之间有一定关系。培养基中即使有葡萄糖，只要加入cAMP也可刺激那些受分解物阻遏的酶进行合成。乳糖操纵子中同样也有这种情况，只有以乳糖为唯一碳源时，β－半乳糖苷酶的合成才增加。但是在以乳糖和葡萄糖为碳源时，如果加入cAMP，β－半乳糖苷酶的合成速率也大大提高，可达到只用乳糖为碳源时的水平。这说明胞内cAMP的浓度能够影响β－半乳糖苷酶的合成速率。这一过程要涉及到一种诱导蛋白，这种诱导分子称为基因激活物蛋白(gene activator protein)，它能辅助RNA聚合酶的局部活动。在大肠杆菌中，正调节对具有弱启动子的RNA转录单位很重要。激活蛋白可结合到邻近的专一DNA序列上，从而能同RNA聚合酶接触，起始转录。

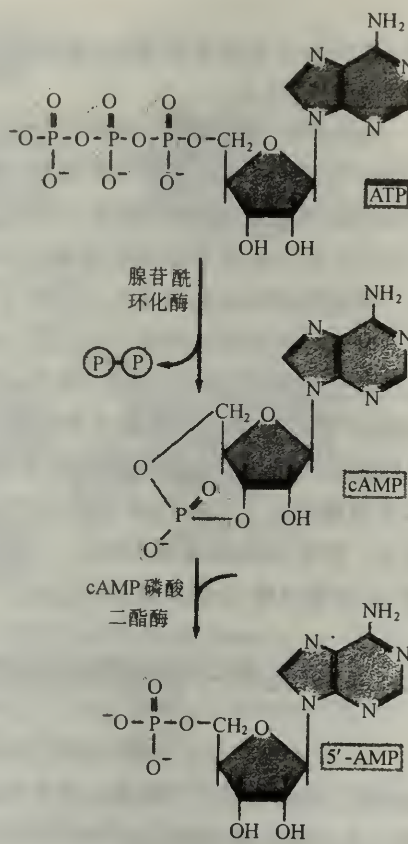


图14－48　cAMP的合成与降解
在腺苷酰环化酶的作用下，ATP转化为cAMP；在cAMP磷酸二酯酶的催化下，cAMP转变为5′AMP

在某些方面，基因激活蛋白很像阻遏物蛋白。实际上，细菌中有一些基因调节蛋白既具有阻遏物的功能，又具有激活物功能；它结合在基因组的一些部位上可阻遏某些部位的转录，而结合在另一些部位上则可能激活转录。正像阻遏物一样，激活物常同专一信号配体结合，提高或降低合成蛋白与DNA的亲和力，从而分别开放或关闭基因，因为转录多半在有基因调节蛋白时发生。这种基因调控称为正调节(positive regulation)。

研究得最清楚的基因激活物蛋白是大肠杆菌中的分解物基因激活蛋白(catabolite activator protein, CAP)，这种蛋白质能使细菌在无葡萄糖时利用另一种碳源。当有乳糖存在时，别构乳糖使乳糖阻遏物从DNA上释放下来，但这还不足以激活乳糖操纵子的转录，因为lac启动子是一个弱启动子。因此，要从这一启动子转录，需要把CAP结合在启动子上，以增强RNA聚合酶的结合。这一调节方式也存在于甘露糖、半乳糖和其他糖的代谢酶。当缺葡萄糖时，导致细胞内的cAMP水平提高，在细菌和真核细胞中，cAMP起胞内信号的作用。cAMP与CAP结合，引起CAP构象发生变化，从而使其同DNA特定序列结合，激活邻近基因的转录。当葡萄糖充足时，胞内cAMP水平下降，cAMP从CAP蛋白上分离下来，CAP失活，不再结合到DNA上，细胞便转向利用葡萄糖代谢。因此，细菌对乳糖的利用是通过负、正两条途径配合进行调控的。

(三)不同的 σ 因子可使 RNA 聚合酶识别不同的启动子

细菌 RNA 聚合酶含有的 σ 因子，在酶与启动子特异性结合的过程中起着极其重要的作用，提高辨认启动子的能力，降低 RNA 聚合酶与 DNA 的非特异性结合，提高 RNA 链起始合成的速率。现在已知 σ 因子的结合保证了原核生物 RNA 聚合酶只能与启动子区而不是其他区域形成稳定的复合物。

在有些细菌细胞内含有不同的 σ 因子，它们可以辨认不同的启动子，因此具有调控不同基因转录起始的作用，以适应生长发育不同阶段的要求。例如，在枯草杆菌中有 6 种分子量不同的 σ 因子，其中 σ^{55}(在上角数字代表分子量)是枯草杆菌营养细胞中 RNA 聚合酶中 σ 因子的主要形式；σ^{29} 则出现在孢子形成阶段，这可能和控制孢子形成的基因转录有关。在大肠杆菌中由 rpoD 基因编码的 σ^{70} 在细胞生命活动中是最常见的调控因子。由 T_4 噬菌体所产生的 σ^{55} 能同正常大肠杆菌 RNA 聚合酶的核心酶结合，负责 T_4 晚期基因的转录，这些基因产物是 T_4 噬菌体复制最后阶段所需的蛋白质，从而得以使 T_4 噬菌体复制完成。

二、真核生物中蛋白质合成的调控

真核细胞具有由核膜包被的细胞核，其基因转录和翻译分别在细胞核和细胞质中进行，而基因转录的模板－染色质 DNA，又是与组蛋白组构成染色质的基本单位－核小体；另外，真核基因本身的结构也较复杂。因此，与原核细胞相比，真核基因的表达远较原核基因的表达复杂。真核基因严格地按照一定的时空顺序表达，其表达调控的范围也更大。虽然真核基因表达在从 DNA 转录为 RNA，再进而合成蛋白质的途径中具有不同层次、不同水平的调控，但对大多数基因来说最为关键的还是在转录水平上的调控。

(一)染色质结构与基因表达调控

1. 基因转录与核小体结构

在真核细胞中，核基因组 DNA 与蛋白质结合，形成以核小体为基本单位的染色质，因而真核基因的转录必然要涉及到紧密包装的染色质结构的变化。早期的观点认为，只有在染色质结构破坏，核小体解体、DNA 完全暴露的条件下，才能进行基因转录。近年来不少实验表明，RNA 聚合酶并不是在完全暴露的 DNA 模板上来进行基因转录的。有关 SV40 微染色体的研究，发现正在转录的基因仍然具有核小体结构，只是局部染色质解聚成疏松状态，RNA 聚合酶和有关的转录因子等得以进入核小体，并与 DNA 上顺式元件结合，发动基因转录。那么，RNA 聚合酶和转录因子等如何作用于核小体上的 DNA 调节序列，核小体又是否解开呢？对此，近年来已提出一些假说和模型。一种模型认为：RNA 聚合酶进行转录时，并不需要整个核小体移位，而只是阻抑启动子的组蛋白暂时移开(图 14－49)。但是，转录开始，核小体上的 H_2A-H_2B 组蛋白二聚体分开，RNA 聚合酶Ⅱ进入核小体，并把附着于 H_3-H_4 二聚体上的 DNA 拽开以便继

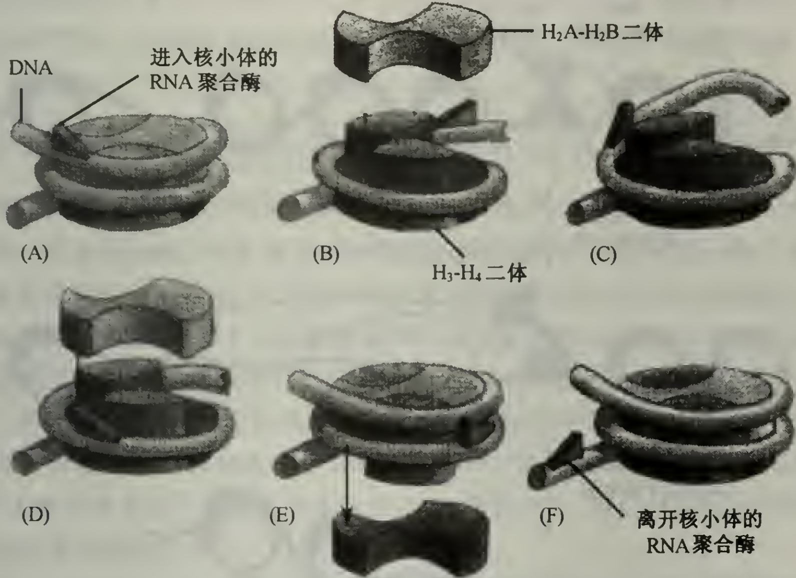


图 14－49　真核基因转录时在核小体不移位的状态下进行转录示意图(图 Alberts, et al.　1994)
(A)聚合酶首先使 H_2A-H_2B 二体移位，便于聚合酶进入核小体；(B)聚合酶将 DNA 从 H_3-H_4 二体上拉开；(C)继续转录；(D)H_2A-H_2B 二体被核小体重新扑回；(E)对称配置 H_2A-H_2B 二体移位；(F)聚合酶离开核小体

续转录。而后，被移开的 H_2A-H_2B 二聚体重新组装进核小体。同时，与它相对的 H_2A-H_2B 二聚体移位，聚合酶沿相应区域的 DNA 前行。转录完成后，聚合酶离去。

从染色质中核小体组构严密的情况看，转录因子似乎不太可能与缠绕在核小体核心上的启动子序列接触。因此又提出了另一种模型来解释核小体与基因转录的关系。根据这一模型的观点，结合在 DNA 调节序列上的基因激活蛋白，具有一种独立的活性，能直接使核小体移位，暴露出启动子，便于转录因子同这一序列组装成转录起始复合物(图 14－50)。

尽管上述模型对基因转录时染色质可能出现的核小体的移位或局部结构变化进行了初步探讨，但相关的机制尚不清楚，有待于更深入地研究。

2. 组蛋白和非组蛋白对转录的调节

在真核细胞中，DNA 分子含有多种多样的基因，但是带负电荷的 DNA 分子和带正电荷的组蛋白紧密结合而呈封闭状态。因此，DNA 分子中有的基因虽具有转录为 mRNA 的潜能，但由于被组蛋白封闭而不能进行转录。由此可见，组蛋白的结合与分离以及修饰(如乙酰基化、甲基化、磷酸化等)能调节 mRNA 的转录。

非组蛋白带有负电荷，能通过静电作用，吸引封闭 DNA 的组蛋白，使二者分离，DNA 得以转录。非组蛋白种类繁多，分子量小的只有 1 万，大的可达 15 万。非组蛋白中有多种是参与核酸代谢和修饰的酶，如 RNA 聚合酶、DNA 聚合酶、多 (A) 聚合酶、DNA 内切酶、DNA 外切酶、组蛋白乙酰转移酶、组蛋白甲基化酶、组蛋白激酶、组蛋白水解酶以及非组蛋白激酶等。

非组蛋白有物种和组织特异性，能与 DNA 特异结合，对 DNA 有专一调控作用。例如从鸡红细胞中提出 DNA 和组蛋白，加上鸡网织红细胞的非组蛋白或鸡肝细胞的非

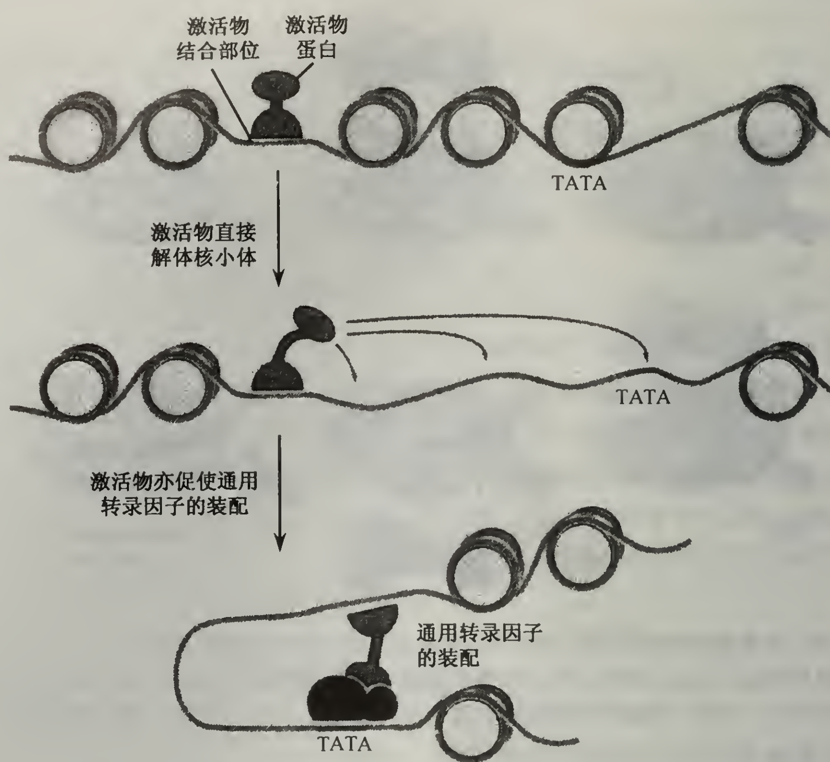


图 14－50　真核基因转录起始中核小体移位模型

基因激活蛋白使核小体从启动子移开，暴露出启动子，从而可让通用转录因子在启动子上装配

组蛋白，重新装配成染色质，然后加上大肠杆菌 RNA 聚合酶，进行体外转录。经过用鸡血红蛋白 mRNA 的 ^{3}H-cDNA 杂交实验结果表明，加入网织红细胞的非组蛋白时，能促进血红蛋白基因转录，合成血红蛋白 mRNA，而加入肝细胞的非组蛋白，则不发生这种转录。Kleinsmith 的实验进一步证明了非组蛋白具有物种特异性。实验是采用 DNA 纤维柱层析法，先将大鼠 DNA 提取物同柱内纤维结合，再将从大鼠肝提取的非组蛋白通过层析柱，有少量非组蛋白同 DNA 发生了结合，留在柱内。然后把这种结合的蛋白质提取出来，使其通过装有细菌 DNA 纤维素层析柱时，绝大部分蛋白质通过了滤柱。这说明，非组蛋白能与有亲缘关系的 DNA 结合，而不与异源 DNA 结合。

非组蛋白对转录的调节可能是分两步进行的。首先，非组蛋白能特异性地同被组蛋白所阻遏的 DNA 特定区域相结合；然后，非组蛋白发生磷酸化，因为磷酸根带负电荷，所以非组蛋白开始排斥带负电荷的 DNA，而与带正电荷的组蛋白结合成复合物。结果便解除了组蛋白在特定区段对 DNA 的抑制，使该区基因发生转录。由此可见，基因的活化以及细胞的分化与非组蛋白的磷酸化有关。我们知道 S 期的基因转录比有丝分裂期活跃。Kleinsmith 发现，非组蛋白在 S 期的磷酸化作用比有丝分裂期活跃。在 S 期与基因相结合的非组蛋白发生磷酸化，结果使特定区段 DNA 与组蛋白松解。

(二)真核基因转录水平的调节

真核基因转录起始是一个复杂的过程，它既受控于基因所在 DNA 上的顺式调控

元件(调控基因表达的 DNA 序列),又涉及到许多反式调控因子(调控基因表达的其他基因的表达产物),因而转录起始的调控是真核生物基因转录水平调控的最为重要的一步。

1. 真核生物的基因受到邻近的启动子和远方的增强子的调控

启动子是决定真核基因转录起始并能被 RNA 聚合酶所识别和结合的特异性 DNA 序列,是基因准确而有效地进行转录所必需的部分。真核细胞中的 3 种 RNA 聚合酶各具有不同特点的启动子,其中 RNA 聚合酶Ⅱ的启动子是研究得最为广泛而深入的。RNA 聚合酶Ⅱ的启动子一般紧邻基因转录起始上游,长约 100 余个核苷酸对,是多部位结构。其中所含的 TATA 框 (TATA box 或 Hogness box) 约在起始位点上游 ~ 30bp 处,具有高度的保守性,在与通用转录因子的相互作用下,召引 RNA 聚合酶与启动子结合,保证转录准确地在起始点开始。此外,在一些真核生物中,其启动子中 TATA 框上游具有其他与转录起始有关的 DNA 调节序列,如 CAAT 框、GC 序列等,主要是控制转录起始的频率。

增强子 (enhancer) 是一种远端调控元件,可以通过启动子来增强转录的效率。增强子首先是在猿猴空泡病毒 SV40(Simian virus 40)中发现的,它能增强病毒感染早期所需产物的基因转录。当把这一增强子序列连接到 β – 珠蛋白基因上时,就可使该基因的转录提高 200 倍以上,甚至连接到离起始转录部位 3000 多个核苷酸对的远处,其增强转录的效应也很高。以后在真核细胞内也发现有增强子存在,如在海胆组蛋白 DNA 中,远离 TATA 框上游的增强子序列,在与基因调节蛋白的共同作用下,极大地影响了 H_2A 组蛋白的基因转录。

增强子和启动子一样常是由一个或多个具有特征性的独立 DNA 序列组成,这种序列中的“核心”组件约 8 ~ 12bp,常以单拷贝或多拷贝串联的形式存在。增强子的相对位置与启动子无关,既可在基因 5′上游,也可在基因内或 3′下游的序列中,因此其作用与所在部位的方向无关,不论正向或反向,它都具有增强效应。和启动子一样,增强子也要通过与特定的转录调节蛋白结合来实现它对转录的增强效应。

近年来还发现在真核细胞中有一种顺式元件——沉默子 (silencer),其作用与增强子相反,在基因表达调控中起抑制作用,而且这种负调控作用可以不受距离和方向的限制。对于沉默子的研究还较初步,相应的作用机制尚不清楚。

2. 真核生物基因转录的启动需要转录因子的参与

与原核生物的 RNA 聚合酶能直接进行基因转录的情况不同,真核生物的 RNA 聚合酶必须在一些 DNA 专一序列结合蛋白(sequence-specific DNA-binding protein)的协助下,才能结合到启动子上。DNA 专一序列结合蛋白中有一些是通用转录因子 (general transcripon factor TF),在基因开始转录前它们结合到启动子上,与 RNA 聚合酶组装成转录起始复合物,起始转录。RNA 聚合酶 Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ识别不同的启动子,也需要不同的转录因子,它们分别称为 TFI、TFII 和 TFIII。其他一些 DNA 专一序列结合蛋白则是特定的转录因子,现已发现有数百种以上。这是一些能和特定的 DNA 调节序列相结合的基因调节蛋白 (gene regulatory protein),在基因转录起始和调节等方面有着重要的作用。

(1) 转录起始复合物的组装与转录起始：转录的起始需要有转录起始复合物(transcriptional initiation complex)的发动，转录起始复合物是由转录因子、TBP 相关因子和 RNA 聚合酶共同组成的大复合物。转录起始复合物的装配有一定顺序，转录因子结合到启动子的特定序列可以引导其他因子和 RNA 聚合酶分子结合到启动子上，然后起始转录。真核生物的 3 类 RNA 聚合酶，进行基因转录时都需要一套转录因子与相应的启动子结合。真核生物的大部分基因是靠转录因子Ⅱ进行转录，现以 RNA 聚合酶Ⅱ启动子为例说明通用转录因子在起始复合物组装中的作用。

RNA 聚合酶Ⅱ要正确起始基因转录一般需要 7 种通用转录因子的配合，这些转录因子在同聚合酶Ⅱ组装成起始复合物的过程中都遵循着一定的时空顺序。转录起始时，TFII D 先结合到 TATA 序列上，另外那些转录因子都以 TFII D 为靶子，通过同它的相互作用来影响起始复合物的形成和稳定性，实现对转录的调节。TFII D 是一个多聚体，其中对 TATA 序列有识别作用的亚基称为 TATA 框结合蛋白(TATA box-binding

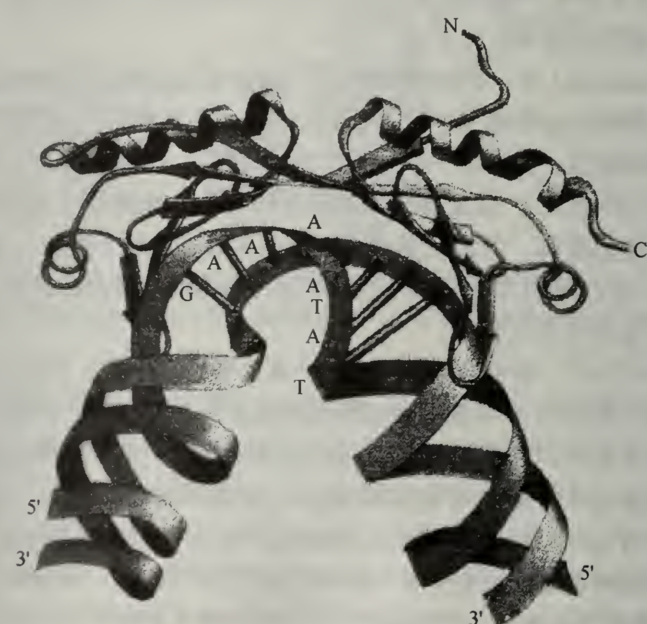


图 14－51　结合到 TATA 框上的 TBP 的三维结构示意图(自 Alberts, et al. 1994)
TATA 结合蛋白(TBP)是通用转录因子 TFIID 的一个亚基，它对 TATA 框序列有识别能力，当它结合上时，可使 DNA 部分解旋，双螺旋分离，产生两个扭结。由于 TBP 结合所引起的 DNA 折曲成为其他通用转录因子与启动子结合的路标

protein, TBP) 其他的亚基约为 8 种分子量不同的 TBP 相关因子 (TBP-associated facfor, TAF)。起始复合物组装的第一步是 TFII D 的 TBP 亚基识别并结合到启动子的 TATA 框上，引起此序列弯曲，造成局部构象的变化(图 14－51)。这一局部扭曲成为吸引 RNA 聚合酶Ⅱ和其他转录因子在启动子上参与组装的路标。

TFII A 和 TFII B 是继 TFII D 之后加入转录起始复合物的转录因子。TFII A 的加入，可防止某些抑制物的掺入，有助于 TFII D 同 TATA 框结合的稳定，使组装过程得以继续进行。TFII F 是先与 RNA 聚合酶Ⅱ形成复合物，然后才一起加入到起始复合物中。以后，TFII E、TFII J、TFII H 也相继组装到起始复合物中(图 14－52)。TFII H 是

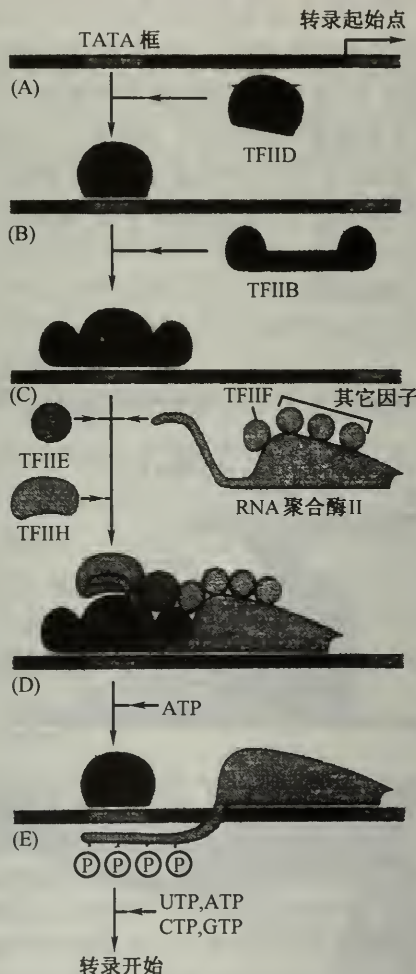


图 14-52 真核生物 RNA 聚合酶Ⅱ转录起始复合物的组装过程示意图(自 Alberts, et al. 1998)
RNA 聚合酶要进行转录需要有通用转录因子(如 TFIIA、TFIIB……等)的协助。转录起始复合物形成之后，TFIIH 利用 ATP 使 RNA 聚合酶Ⅱ磷酸化，磷酸化使聚合酶Ⅱ的构象发生变化，从而使其脱离转录起始复合物，进行转录，合成 RNA(A)启动子含有一个称为 TATA 框的 DNA 序列，此序列距转录起始部位为 25 个核苷酸；(B) TATA 框可被 TFIID 转录因子所识别，并与之结合；(C)随后 TFIID 促使 TFIIB 相邻结合；(D)其余通用转录因子，以及 RNA 聚合酶本身均在启动子上装配；(E)TFIIH 利用 ATP 使 RNA 聚合酶 II 磷酸化，RNA 聚合酶 II 构象发生改变，从而从复合物中释放出来，又能起动转录。聚合酶的磷酸化部位是分子延伸的一条多肽链尾。

一个多亚基的蛋白质复合物，如酵母的 TFII H 即由 5 条多肽链构成，其中有的亚基具有解旋酶活性，能利用 ATP 水解产生的能量使模板 DNA 解螺旋；另一个亚基有激酶活性，在 ATP 存在下，使聚合酶大亚基的 CTD 中的丝氨酸或苏氨酸磷酸化(参见本章第 421 页)，以便聚合酶脱离起始复合物而起始转录。

(2)基因调节蛋白同增强子结合远距离地调控转录：从前述已知通用转录因子和 RNA 聚合酶通过与启动子相结合以起始转录。但进一步的研究表明，在真核细胞中，对几乎所有的基因来说，通用转录因子和聚合酶还需要激活蛋白的协助，才能有效地启动转录。

虽然愈来愈多的资料已显示出结合到增强子上的激活蛋白可明显地增强转录速

率。但是增强子在 DNA 上的位置与启动子的距离有时可长达几千个 bp,那么增强子以及同它结合的调节蛋白质又是怎样越过这种长距离来发挥它们的功能，将其效应传递给启动子呢?有关的模型认为，基因调节蛋白结合到增强子上，能使增强子和启动子间的 DNA 序列形成环套，于是该调节蛋白便可与启动子上的 RNA 聚合酶或通用转录因子相接触(图 14-53)。这样，该 DNA 序列就作为一个拴扣，把结合于增强子的调节蛋白引向远距数千碱基对以外启动子上的起始复合物，彼此互相作用，行使功能。

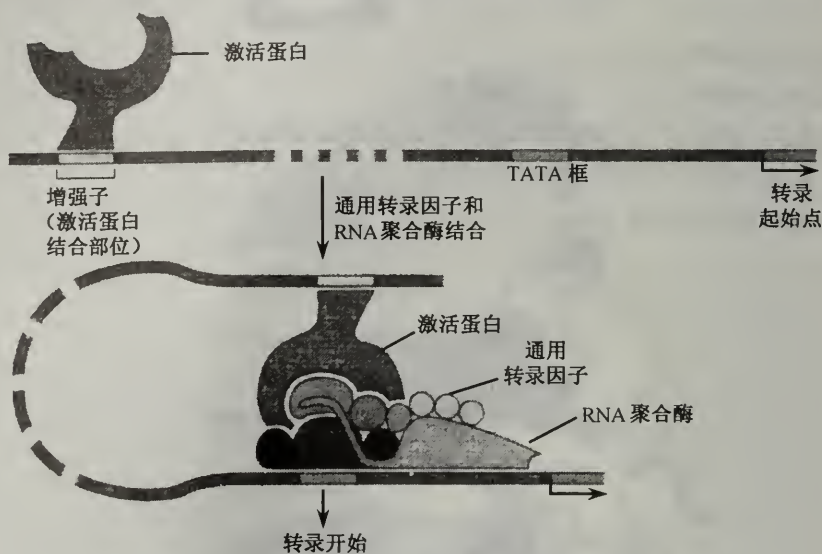


图 14-53　真核生物中基因激活蛋白远距离调控模式

在一般情况下，通用转录因子和 RNA 聚合酶本身不能在启动子上进行有效的装配，而必须有结合在增强子上的基因调节蛋白加以刺激。由于启动子与增强子的距离远(上万个核苷酸对)，因此启动子与增强子之间的 DNA 链要发生折曲，以使结合在增强子上的调节蛋白与转录起始复合物接触，二者相互作用

真核生物中，基因调节蛋白结合到远距离的基因调节序列上，通过影响转录起始复合物装配的途径，增强或是降低启动子上聚合酶的活性。一般激活蛋白促进复合物组装，而抑制蛋白则阻止或破坏复合物的正确组装。

在细菌与真核生物中，基因调节蛋白都是通过协助或抑制启动子上转录因子的组装和 RNA 聚合酶活性来调控基因表达。真核基因调节蛋白所结合的 DNA 调节序列相当于细菌的操纵基因和激活蛋白结合序列，只是在真核中这些序列往往位于启动子的 DNA 上(图 14-54)。



图 14-54　细菌和真核生物中基因激活机制的差别

3. 调控蛋白与 DNA 的相互作用对基因转录调控

(1) 调控因子与 DNA 的相互作用：在 DNA 上不论顺式调控元件中的启动子还是增强子，它们都需要与专一序列 DNA 结合蛋白共同作用，才能行使对转录的调节功能。于是，人们便把参与转录调控的基因调节蛋白统称为基因表达调控的反式作用因子(trans-acting factor)。它们是由不同染色体上的基因座位编码，能直接或间接结合到 DNA 的基因调节序列上，如前述的通用转录因子、基因激活蛋白或抑制蛋白等。

目前已鉴别的 DNA 调节序列达数百种，其中每一个又都能被一个或多个调节蛋白分子所识别并结合，从而组成联合体，为转录调控起到开关的作用，那么，它们究竟是怎样相互作用来实行调控的呢？

一些实验结果显示，调节蛋白所识别的专一 DNA 序列，其双螺旋表面有较适合于同调节蛋白紧密结合的某些特征。因此，不同的调节蛋白可识别不同的核苷酸序列。在大多数情况下，调节蛋白是插到识别区域的 DNA 双螺旋的大沟中，与其中的碱基对产生一系列的分子接触点，并在蛋白质与碱基对的接触边缘形成氢键、离子键或发生疏水性相互作用。但上述这种相互作用并不破坏 DNA 双螺旋中维系碱基对的氢键(图 14 - 55)。尽管蛋白质与 DNA 间的每个接触点的作用都比较弱，但 20 个或更多的这种接触加在一起，就相当强，而且具有高度的专一性。事实上，蛋白质、DNA 间的相互作用是当前生物学中已知的最为紧密、最为专一的分子间相互作用。

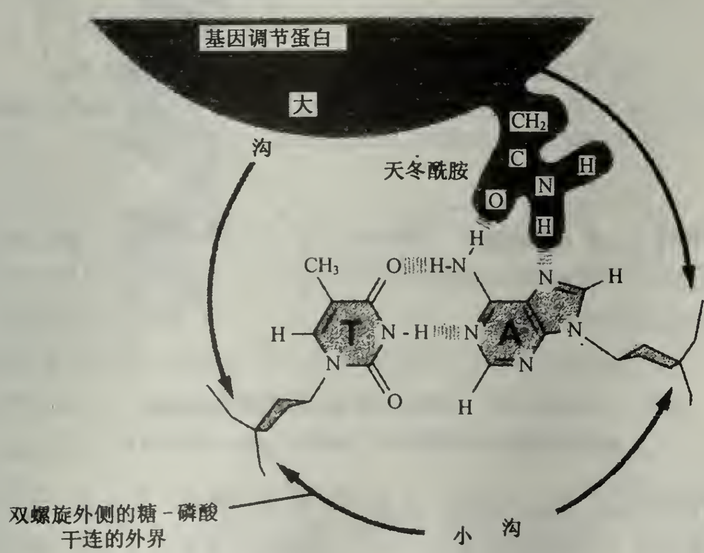


图 14 - 55 基因调节蛋白与 DNA 的结合

一般基因调节蛋白与 DNA 间有 10 ~ 20 个接触点，各点的氨基酸不同。图中只表示出一个接触点

真核生物中，有些调节蛋白如激活蛋白不是直接作用于 DNA，而是发生间接作用。这种间接作用是通过改变染色质结构，使转录因子易于同 DNA 接触。如果启动子中的 TATA 框处于核小体区间，TBP 就不能结合上去，因而基因不能转录。而酵母中的激活蛋白 Swi/Snf 在 ATP 的协助下，可以改变染色质核小体结构，使 TBP 得以同 DNA 结合，从而激起转录。

(2) 转录调控因子的结构特征：对研究得较多的转录因子，如 Spl、CTF、Ap-1、Ap-2、Oct-1、Oct-2 等的结构分析，已经鉴别出它们的基本结构中具有不同功能的功能域（domain），它们是由几十到几百个氨基酸构成，其中 3 个主要的功能域是：DNA 结合功能域、转录激活功能域和结合其他因子的功能域。它们都具有不同的结构特征，行使不同的功能。

1) DNA 结合功能结构域：真核生物转录因子的 DNA 结合功能域各具不同的结构域（motif），它们能与专一的 DNA 序列相互作用。目前研究得较为清楚的有 4 种结构域，即 α 螺旋－转角－α 螺旋、锌指结构、亮氨酸拉链和 α 螺旋－袢环－α 螺旋。

A. α 螺旋－转角－α 螺旋结构域（helix-turn-helix motif）：是从原核生物的激活蛋白和阻遏蛋白中最早鉴定出来的一类结构域。至今在原核生物和真核生物中已发现有百种以上具有这种结构域的 DNA 结合蛋白，如大肠杆菌的色氨酸阻遏物、控制果蝇早期体节发育的 DNA 结合蛋白等。这种形式的 DNA 结合结构域有两个 α 螺旋，其间有 β 转角。羧基端的 α 螺旋为识别螺旋，其氨基酸残基直接同靶 DNA 大沟的特定碱基结合；另一个 α 螺旋的氨基酸和 DNA 中的磷酸戊糖骨架接触（图 14－56）。具有这种结构域的蛋白质与 DNA 结合时，其 α 螺旋－转角－α 螺旋常以二聚体形式发挥作用。

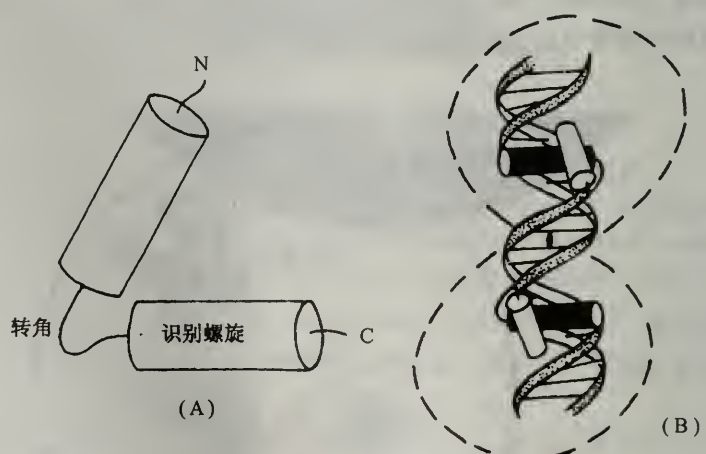


图 14－56　α 螺旋－转角－α 螺旋结构模式

(A)结构模式；(B)α 螺旋－β－α 螺旋与 DNA 的相互作用

B. 锌指结构（zinc finger motif）：是由一小群氨基酸和一个锌原子结合，在蛋白质中形成相对独立的一个结构域，故而得名。这种结构域首见于 RNA 聚合酶Ⅲ的转录因子 IF Ⅲ中，以后发现也存在于 RNA 聚合酶Ⅱ的转录因子中。每个锌指结构约含 30 个氨基酸，其中有一对半胱氨酸（Cys）和一对组氨酸（His），它们与锌原子之间形成配位键连接，在半胱氨酸对和组氨酸对之间约有 12 个其他氨基酸（图 14－57）。已知的锌指结构分两类：一类是 Cys_2/His_2，一类是 Cys_2/Cys_2。锌指结构的共同特点是以锌作为活性结构的一部分，通过 α 螺旋结合到 DNA 大沟中，锌指环上突出的赖氨酸、精氨酸参与同 DNA 的结合。RNA 聚合酶Ⅲ转录 5S rRNA 基因时所必需的转录因子 TFⅢA，就有由 9 个锌指结构组成的串联重复结构域，由于重复出现的 α 螺旋几乎连成一线，使得这种蛋白质因子在 DNA 大沟中的结合很牢固且特异性高。

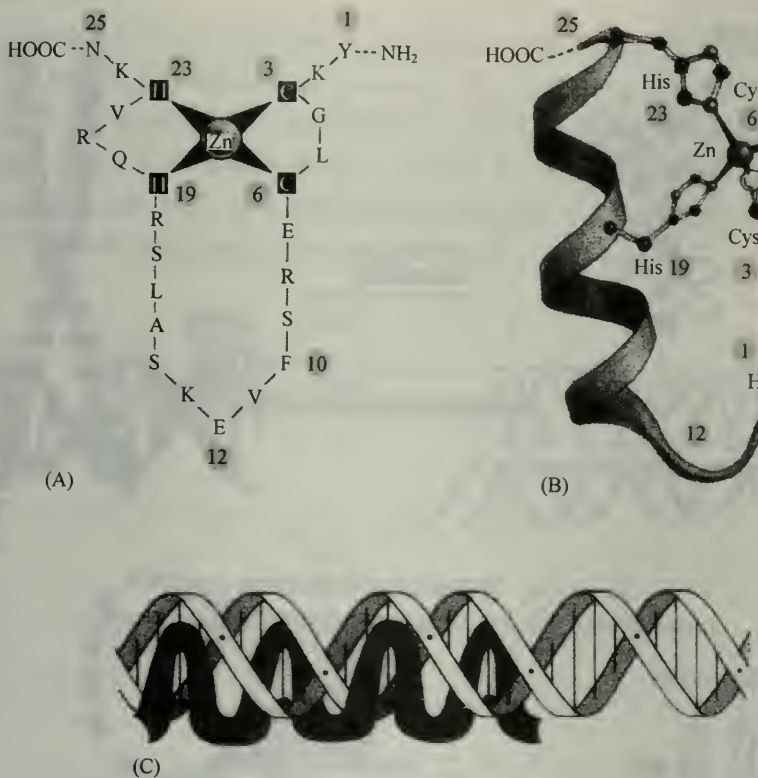


图 14－57　基因调节蛋白的锌指结构及其与 DNA 的结合

图中(A)示锌指蛋白的 Cys-Cys-His-His 家族分子结构模式图；(B)示锌指的三维结构，每一个锌指可识别 5 个核苷酸的专一序列；(C)锌指插入 DNA 双螺旋的大沟中发挥作用

还有人提出第三类锌指结构，即其构型中有 3 对半胱氨酸与 2 个锌原子结合，如酵母的转录激活因子 GAL 4 蛋白、哺乳动物的甾体激素受体蛋白的锌指结构即属此型。

C. 亮氨酸拉链型结构域 (leucine zipper motif)：这类结构的特点是肽链羧基端约 35 个氨基酸残基可形成 α 螺旋，且其中每相隔 6～7 个氨基酸就含有 1 个亮氨酸，因此，当蛋白质形成 α 螺旋时亮氨酸可排成一行，出现于螺旋的同一侧面。由于这类蛋白质常以二聚体形式同 DNA 上靶位点结合，两个分子相应的 α 螺旋之间，靠亮氨酸残基的疏水作用力，形成形似拉链的结构 (图 14－58)，故名。但亮氨酸拉链部分并不直接结合到 DNA 上，而是以肽链氨基端富含碱性氨基酸的结构域与 DNA 结合。含有这类结构域的转录因子有酵母中转录激活因子 GCN4、癌基因 *Myc*、*c-fos* 等，它们能与启动子的 CAAT 框、病毒的增强子结合。

D. α 螺旋－袢环－α 螺旋结构域(α helix-loop-α helix, HLH)：这是近年来新发现的一种 DNA 结合结构域，广泛存在于动、植物的 DNA 结合蛋白中。HLH 的结构由三部分组成：肽链近羧基端的残基可形成两个 α 螺旋，螺旋之间是 1 个或几个 β 转角组成的袢环区连接 (图 14－59)。螺旋中有亮氨酸为主体而形成的疏水面和以亲水氨基酸残基组成的另一侧亲水面，这样的结构有助于二聚体的形成。在肽链氨基端邻近 α 螺旋处有带大量正电荷的碱性区，当与 DNA 相靠近时，这些正电荷被 DNA 的磷酸根

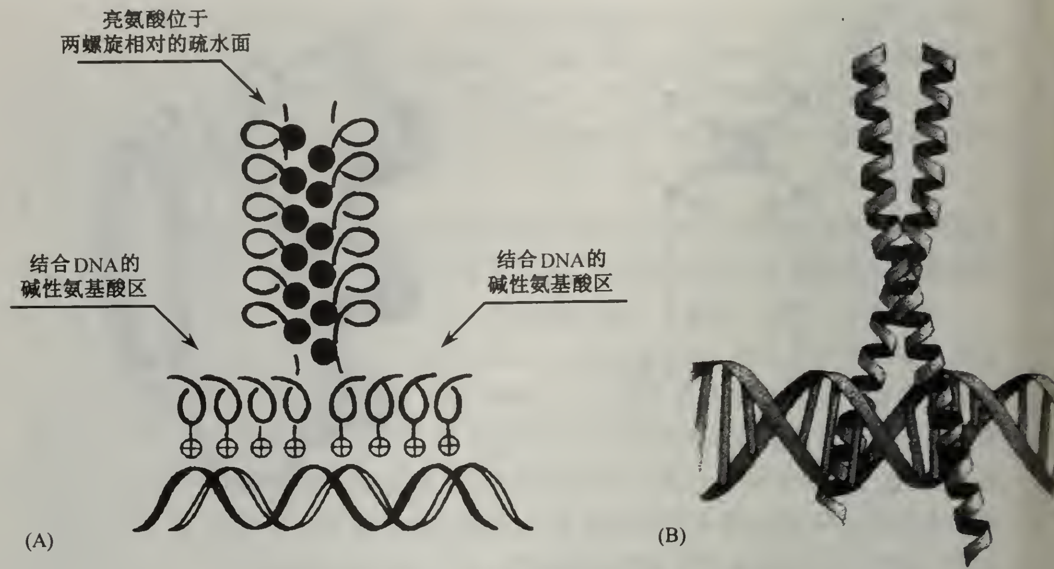


图 14-58　亮氨酸拉链及与 DNA 的结合模式

(A)亮氨酸拉链组构示意图;(B)示一个亮氨酸拉链二聚体结合到 DNA 上

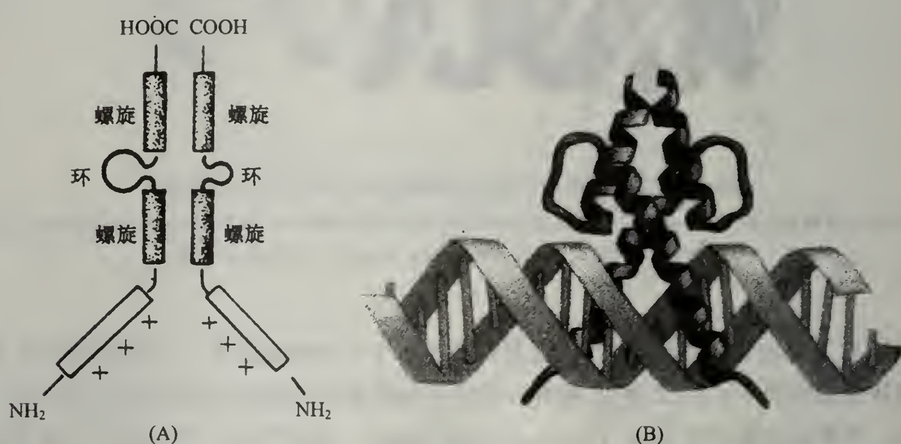


图 14-59　螺旋-袢环-螺旋结构其与 DNA 结合示意图

(A)螺旋-袢环-螺旋结构示意图;(B)螺旋-袢环-螺旋二聚体结合到 DNA 上

离子中和,形成稳定的 α 螺旋结构,然后结合于 DNA 的大沟中。HLH 与 DNA 的这种结合方式与亮氨酸拉链相似。

2)激活基因转录的功能结构域:这一结构域一般由 20~100 个氨基酸残基组成。有时一个反式作用因子可含有多个转录激活区。如酵母半乳糖代谢中转录因子 GAL4 就有两个这种功能结构域,分别位于 148~196 和 768~881 氨基酸序列区间。

不同的转录激活区具有共同的结构特点:①具有含很多负电荷的 α 螺旋结构,但在氨基酸序列上很少有同源性。氨基酸替换实验表明,激活转录的水平与净负电荷的变化有关,增加激活区的负电荷,可提高激活转录的活性水平。②富含谷氨酰胺,如结合于启动子 GC 框的 Spl,共有 4 个激活转录结构域,其 N 端的两个主要激活区谷氨酰胺的含量达 25%。③有些反式作用因子的功能结构域富含脯氨酸残基,如结合于 CCAAT 框的 CTF-1 和 CTF-2 因子,它们的羧基端序列含有的脯氨酸可

达 20% ~30%。

3) 结合其他因子的功能结构域：如酵母 GAL4 因子，简单说来至少含有两个功能域，一个是激活功能域 (activation domain)，另一个是 DNA 结合功能域 (DNA-binding domain)。DNA 结合功能域可识别 DNA 专一调节序列，同基因调控区结合；而激活功能域可同转录装置接触，促进转录起始。GAL4 作为一种基因激活蛋白，它可同启动子附近部位结合，促进 TFIID 结合到刚形成的通用转录因子复合物上。基因激活蛋白的结合可使基因的转录效率提高 1000 倍(图 14-60)。

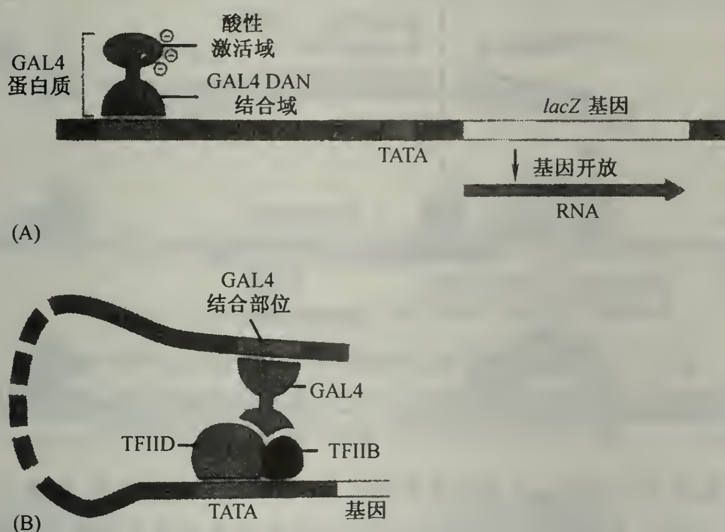


图 14-60　GAL4 基因激活蛋白的作用示意图

(A) GAL4 蛋白引起基因转录的正常激活；(B) GAL4 基因激活蛋白结合到启动子附近的 DNA 上以利于 TFIIB 添加到通用转录因子的新生复合物中。DNA 结合激活蛋白可使转录速率提高 1000 倍

(三)真核基因表达的激素调节

多细胞真核生物的一些基因表达常受内、外激素(hormone)的调控。许多甾类激素如蜕皮素、皮质醇、雌激素、睾酮、甲状腺素、糖皮质素和一些多肽激素(如胰岛素)等，都可以促进某些基因的转录。甾类激素是一些分子量较小的疏水性分子，可以穿过质膜进入靶细胞，与细胞质内或核内的相应受体形成复合物，导致受体分子三维结构甚至化学性质的变化。一般情况下，激素-受体复合物可直接进入细胞核，调控基因转录(图 14-61)。许多研究表明，激素通过同细胞内特定的受体蛋白分子相结合，激活特定的基因家族，能导致动物和人体在分化和发育上出现一系列复杂而又协调的反应。如昆虫变态时，蜕皮激素引起的多线染色体疏松区所发生的有规律的变化。用 ^{3}H-尿嘧啶作为前体物进行的实验已经证明，这些多线染色体上疏松区的变化实际上就是基因正在转录的表现。

激素究竟怎样来调控基因转录呢？在这方面，疏水性的甾类激素是研究得最为广泛和深入的。早在 20 世纪 70 年代，人们发现激素可以使与其相结合的受体蛋白发生某些变化，从而结合到染色质上以促进转录。受体蛋白分子为一条由 800 个氨基酸组成的多肽链，含有 3 个功能区：羧基端激素结合区、中部 DNA 结合区和氨基端转录调控区。通常，在非激活状态时，受体上结合了一个含热激蛋白 90(Hsp90)的抑制蛋白复

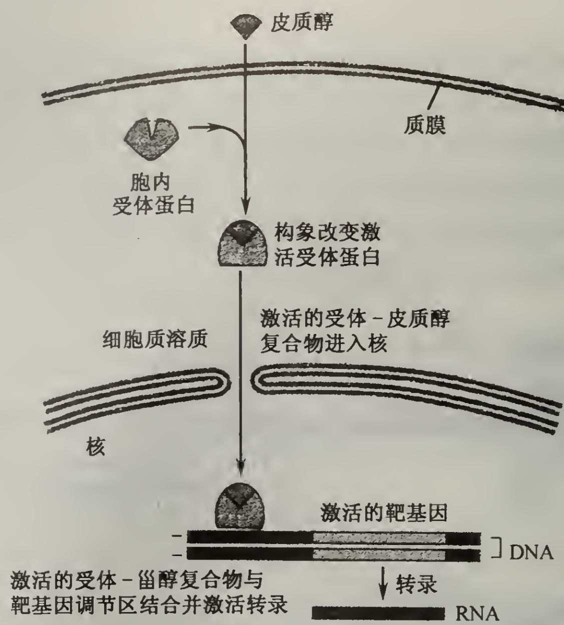


图 14－61　皮质醇激素通过激活基因调节蛋白激发基因转录示意图

皮质醇扩散穿过质膜，与细胞质溶质中的受体结合。皮质醇－受体复合物经核孔进入核，与皮质醇结合的受体被激活，随后受体与 DNA 专一调节序列结合，并激活基因转录

合物。一旦激素分子结合到受体的激素结合区，便导致抑制蛋白复合物与受体解离，暴露出 DNA 结合区，受体被激活（图 14－62）。这种激素受体复合物便可和增强子或其他的基因调节序列结合，大大促进了基因的转录速率。受体蛋白的 DNA 结合区的结构中有两个锌指结构，使受体能以二聚体形式更好地与 DNA 相互作用，调控基因转录。

对一些甾类激素受体蛋白的比较研究，发现它们的大小虽不划一（如盐皮激素受

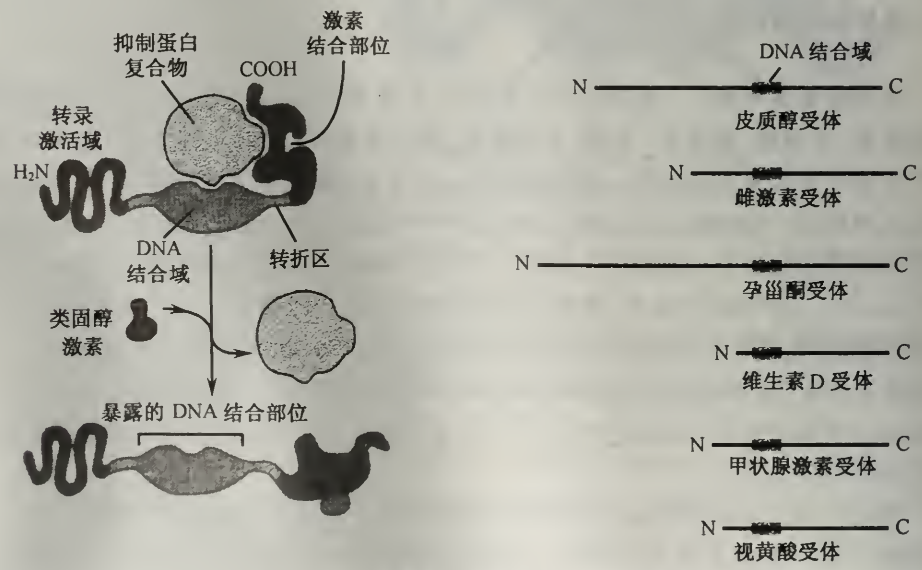


图 14－62　激素激活细胞内受体机制示意图

细胞内受体蛋白与抑制蛋白复合物结合处于失活状态，抑制蛋白复合物中含有一个 HSP90。受体中含有 4 个关键部位：激素结合部位、转折区、DNA 结合域和转录激活域。配体与受体结合后，抑制蛋白复合物解离，受体蛋白暴露出 DNA 结合域，从而得以与 DNA 结合，调节基因转录

体长达 984 个氨基酸，而维生素 D 只有 427 个氨基酸），但都含有一个同源性很高的 DNA 结合区和一个同源性稍差的激素结合区，后者只是氨基端差别大。另外，受体基因的结构也具有相似的高度保守性。因此人们把这些激素受体归为同一个大家族。

从甾类激素的研究中已知，每一类激素有不同的受体蛋白，每个受体可作用于一套不同的调控位点，从而调节一套不同的基因（图 14－63）。这种单个调节蛋白对不同基因的协同调控，在发育中可以产生一些不同类型的分化细胞。

所有水溶性的激素，如多肽激素等，一般说来，分子量较大，到达靶组织后不能直

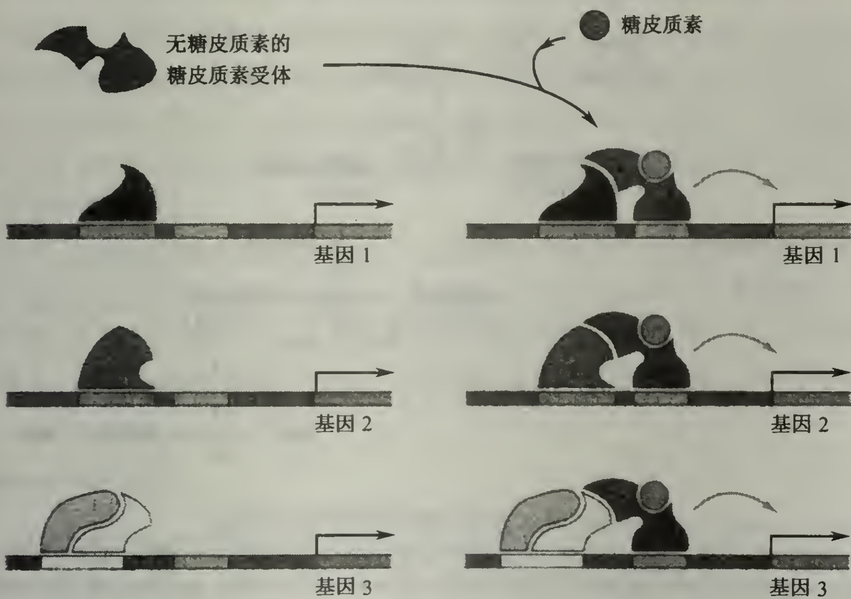


图 14－63　一种基因调节蛋白可协调几个不同基因的表达

几个基因各有不同的基因调节蛋白结合到基因调节区上，然而这些结合蛋白本身不能有效地激活转录，只有再结合上另外的基因调节蛋白才能激活转录。图示糖皮质素与其受体结合成复合物，结合到基因调节区上，启动转录

接进入细胞内，而是先与细胞表面的专一受体相结合，激活位于细胞膜上与受体相连接的效应器，进而向细胞内传递激素所携带的生理信息，并通过对 DNA 的调控最终影响蛋白质合成，产生一定的生理效应。目前对多肽激素了解较多的是胰高血糖素和肾上腺素对脂肪细胞和肝细胞的作用方式。如胰高血糖素接触靶细胞时，首先与受体结合，并激活质膜上的腺苷酸环化酶，以 Mg-ATP 为底物，生成环腺苷酸和焦磷酸。由于细胞内 cAMP 浓度的升高，使蛋白激酶活性增强，同时改变了细胞内特定酶系的磷酸化水平和酶活性，糖原最终分解为葡萄糖－1－磷酸（图 14－64）（参见第十七章）。

多肽激素受体的普遍特征是它们对各自特定的激素具有高度的特异识别能力和亲和力。因此，激素到达靶细胞时，能迅速与受体相结合，形成激素－受体复合物，随即产生继发的生化反应和生理反应。

（四）蛋白质合成的转录后和翻译水平的调节

1. 转录后的调控

虽然转录调控是基因表达极为重要的调控方式，但是，由于真核生物基因转录

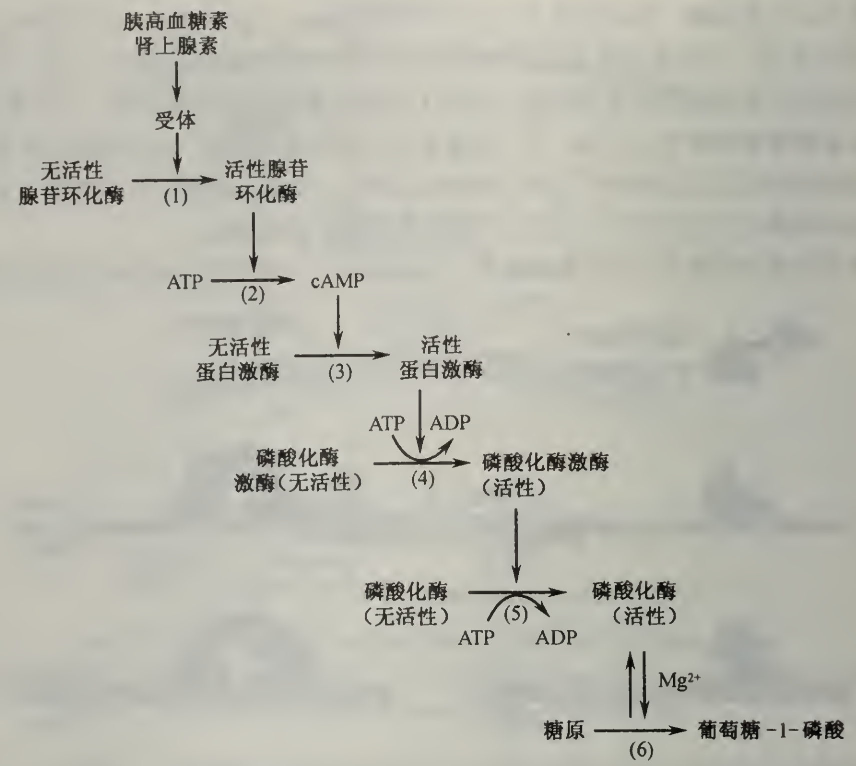


图 14-64 胰高血糖素激活糖原分解反应

(1)和(2)胰高血糖素与受体结合,激活膜上的腺苷酸环化酶;(3)在环腺苷酸作用下,蛋白激酶活性增强;(4)、(5)在活性蛋白激酶作用下,提高了细胞内一些酶的磷酸化水平和酶活性;(6)磷酸化酶活性的增强,最终使糖原分解

和翻译是分别在细胞核和细胞质中进行,且真核生物的结构基因中还有内含子片段,所以转录后还需要在不同情况下进一步加工、剪接和修饰。如前面介绍的 RNA 剪接,5′末端戴上 7-甲基鸟苷酸帽,3′末端多腺苷酸化等,就都是基因转录后的种种调控方式。

近年来还发现一种新的 mRNA 水平上的遗传信息加工方式,称作 RNA 编辑(RNA editing)。这种情形是发生在转录后的 mRNA 中,其编辑区出现碱基插入、删除或转换等变化,从而改变了初始转录物的编码特性。RNA 编辑不同于人们已知的前体 RNA 的剪接,剪接是在切除内含子后得到成熟的 mRNA,其编码信息都存在于所转录的原初基因中。可是经过编辑的 mRNA 其编码区所发生的碱基数量变化,改变了原初基因。RNA 编辑,最初是在原生动物锥体虫线粒体的细胞色素 C 氧化酶亚基Ⅱ(CoⅡ)基因的转录物中发现的,后来在一些植物线粒体 mRNA、哺乳动物和某些病毒 mRNA 中也都发现了编辑现象。目前已知的 RNA 编辑因不同原因而有两种不同情况,在哺乳动物细胞中,常是由于 mRNA 中个别碱基替换而改变了密码子的含义,导致了蛋白质中氨基酸序列的改变。另外,如在锥虫线粒体的 RNA 编辑中,则是由于某些基因转录物中碱基系统地插入或删除,引起 mRNA 较广泛的改变(图 14-65)。

在人类中,载脂蛋白 B(ApoB)在血浆脂蛋白的装配运转和代谢中有重要作用。这种蛋白质按分子量不同分为肝型(512kDa)(ApoB100)和肠型(241kDa)(ApoB48),二者都是由含有 4563 个密码子的同一基因的产物。在发育早期,不论是肝或肠组织,其

```
               480            490            500            510
                |              |              |              |
mRNA 序列     UUA GGU AUA AAAGUA GAU UGU AUA CCU GGU AGG UGU AAU
                                  *   **  **
氨基酸序列     L   G   I   K   V   D   C   I   P   G   R   C   N
DNA 正链序列   TTA GGT ATA AAA GTA GA  G   AA  CCT GGT ATT TGT AAT
                |              |                  |           |
               480            490                500         510
```

图 14－65　锥体虫 CoⅡ基因片段与其表达产物的比较

（*标出 RNA 编辑的位点；下横线标出酵母及人相应蛋白相同的氨基酸）

ApoB 的 mRNA 相同。随着这两种组织的消化功能的发生，肝型 mRNA 未发生编辑，保持原状。然而肠型中的 ApoB 原初 mRNA 上第 2153 位密码子的 C 被 U 所取代，使密码子由 CAA→UAA，产生了一个终止密码子，造成翻译活动半途终止，以致肠型 ApoB mRNA 只有 2153 个密码子得到表达。可见，由于 mRNA 中碱基替换式的“编辑”往往可以改变密码子的含义。

另外，在锥虫线粒体中曾发现有 3 个成熟的 mRNA 中，约有 50% 的尿苷酸是因“编辑”活动产生的。其中最突出的是 CoⅢ mRNA，约有 158 个位点系统地插入了 394 个尿苷酸，又在 9 处删除了 18 个尿苷酸，因而此 mRNA 实际增加了 376 个尿苷酸，占 CoⅢ成熟 mRNA 总长的 55%。因此，CoⅢ基因远小于其转录产物，而被称为隐匿基因。

2. 翻译水平的调控

真核生物中也存在着明显的翻译水平上的调节。在这一水平的调控中，最为重要的几个方面是：mRNA 自身的稳定性、蛋白质合成起始速率的调节以及 mRNA 的结构等。关于蛋白质合成起始时的扫描模式已在多肽链的合成中予以介绍，这里我们将讨论 mRNA 的稳定性及 mRNA 结构对蛋白质合成的影响。

(1) mRNA 的稳定性：在真核生物中，母体 mRNA 是在卵母细胞阶段转录的，但却常同蛋白质结合以核糖核蛋白颗粒（ribonucleoprotein particle）的形式隐蔽下来，即所谓的隐蔽 mRNA（masked mRNA）。这种 mRNA 可较长时期不进行翻译活动，受精后，这些隐蔽 mRNA 有步骤地“显露”出来，并利用卵母细胞中已装配的核糖体进行蛋白质合成，供早期胚胎发育之用。由此可见，mRNA 屏蔽状态的解除与否，mRNA 的寿命长短都直接影响 mRNA 作为合成蛋白质模板的功能。例如丝蛋白（fibroin）mRNA 的利用就是 mRNA 有效调控的良好例证。丝心蛋白是蚕丝的组成成分。蚕（*Bombyx mori*）幼虫的丝腺细胞中有丝心蛋白基因，基因的转录速率很高，而且细胞可有效地利用稳定的 mRNA 合成蛋白质。

有的 mRNA 的稳定性受激素的控制。乳汁中的酪蛋白是在乳腺中合成的，酪蛋白 mRNA 转录物的寿命在有催乳激素时比没有催乳激素时长得多，因此，缺乏催乳激素，乳腺合成酪蛋白的速率就下降。这说明，这种激素对翻译调节有激活作用。

由此可见，真核生物中形成稳定的 mRNA 是一个很重要的翻译调控途径。例如，哺乳动物网织细胞在丢失细胞核之后的数周内尚保存合成血红蛋白的能力，这表明细胞内存在着非常稳定的长寿命血红蛋白 mRNA。

(2) mRNA 非翻译区（untranslated region，UTR）的结构与翻译调控：真核 mRNA 分子的非翻译区不仅包括 5′端的“帽子”结构和 3′端的多(A)尾，而且还包括 5′和 3′端

其他非编码序列，这些序列的结构状况在 mRNA 的翻译过程中也有调控作用。

近年，许多体内、外的蛋白质合成实验都证明，mRNA 的翻译的活性要依赖于“帽”的结构，只有当“帽子”被甲基化，形成 m^7G 状态时，mRNA 才能有效地翻译。5′“帽子”的结构不仅有利于 mRNA 由细胞核转运到细胞质并增加 mRNA 的稳定性，而且对于3′多(A)尾在翻译中的有效调节具有协同作用。另外，mRNA 5′端由“帽”到起始密码

表 14－7　真核生物 mRNA 起始密码两侧的共有序列

生物类别	共有序列
脊椎动物	－3＋1＋4 A GCCGCC　CCAUGG G
植物	AACAAUGGC
原生动物	AAAAA AAA A　AAAAUGAN UUUUU UUU
酵母	A　A A AAUGUCU U　U

之间的非编码的先导序列也存在着一些结构特点，与翻译起始的识别机制有关。例如，从翻译起始的扫描模型来看，一个有功能的起始密码 AUG，总是出现在一定的核苷酸序列框架之内(表 14－7)。首先，AUG 上游的第三个核苷酸常是嘌呤且多数为腺苷酸(A)；其次，紧跟在 AUG 后面的核苷酸也应是嘌呤，多数情况不是鸟嘌呤(G)。处于这样序列中的 AUG 利用率最高，而没有起始功能的 AUG，其附近的核苷酸序列则无此保守性。

真核生物中为调节蛋白（如生长因子、基因调节蛋白等）编码的 mRNA 往往不稳定，它们在细胞中的产量水平要受到快速调节。这些 mRNA 之所以不稳定，是因为它们在 3′端存在着一段含 A、U 核苷酸丰富的长序列。在翻译过程中不参加蛋白质的翻译，故称为 3′非翻译区(3′untranslated region, UTR)。3′非翻译区包括终止密码、多(A)尾以及两者之间的非编码序列，它们在翻译过程中同样起着调控作用。UTR 区有促进自身 mRNA 降解的作用。例如利用 DNA 重组技术，将 UTR 序列连接到稳定 mRNA 上，也可使稳定 mRNA 变得不稳定。这是由于：UTR 序列可刺激切除多(A)尾；另外有的 mRNA 的 UTR 区对专一性核酸内切酶有识别作用，通过酶切，使 mRNA 降解。此外，3′UTR 区中的 AU 序列(指 UTR 区 3′端的一段 A、U 核苷酸丰富序列)是对翻译起抑制作用的元件。如在一些细胞因子(如生长因子、癌基因编码蛋白等)的 mRNA 的 3′－UTR 中常有 UUAUUUAU 的八核苷酸序列，去除这段序列可以明显提高 mRNA 的稳定性。3′UTR 序列有助于 mRNA 在细胞中的定位分布。

至于 mRNA 3′的多(A)尾的功能，不仅在 mRNA 由核向细胞质中运转时具有保护作用，而且对 mRNA 的稳定性和翻译效率都有调控作用。

第六节 蛋白质的细胞定位

一、蛋白质合成后的去向和命运

(一)蛋白质合成后的去向

真核细胞是一个高度有序的结构，几乎在任何时候，都有数以百计或千计的蛋白质从核糖体上合成，并离开核糖体被运送到细胞的各个部分，如细胞质、细胞核、线粒体、叶绿体(植物)、内质网高氏器和溶酶体等，以更新细胞的结构组成和维持细胞的功能活动。由于细胞内各部分所专一的结构和功能都取决于特定的蛋白质组成，因而，合成的蛋白质必须准确无误地定向运送才能保证一切生命活动的正常进行。有关蛋白质向细胞器的定位运送，是近年来细胞生物学研究的重要问题之一，也是分子生物学研究的一个热门领域。目前已大致描绘出了这一过程的基本轮廓和机制。

在真核细胞中，蛋白质的转运又常根据其合成场所——核糖体所处的位置而分为两大类：一类是由细胞质溶质内游离核糖体合成的蛋白质，它们是从核糖体上合成后释放出来再转运的，为翻译后转移(post-translational translocation)。在细胞器的发育过程中，由细胞质运入细胞器的蛋白质就属这一类。另外一类是由附着在内质网上的核糖体所合成的蛋白质，它们的合成与转运同时进行，即多肽链一边翻译一边运送，此种运转方式称为为共翻译转移(co-translation translocation)。根据蛋白质合成的场所和蛋白质的最后定位，可以把蛋白质归纳为如下两类：

1. *游离核糖体上合成的蛋白质*

(1) 非定位性的细胞质溶质蛋白：这些蛋白质是在细胞质内游离核糖体上合成后就驻留在细胞质溶质中，并就地成为不同的催化中心，参加细胞质溶质中的代谢活动。

(2) 定位性的细胞质溶质蛋白：由细胞质溶质蛋白 (有的尚有其它成分) 构成的大分子结构，定位于细胞质的特定位置，如中心粒和中心粒周物质。

(3) 核定位蛋白：在细胞质溶质游离核糖体上合成并通过核孔运送到核中的核蛋白，其中有的成为染色体的结构成分，有的则是细胞核中特有结构的组分，如组蛋白、核质蛋白等。

(4)半自主性细胞器组成蛋白：虽然线粒体和叶绿体为半自主性细胞器，但自身只能合成少数蛋白质，它们所含的大部分蛋白质还是从细胞质中运入的。

2. *糙面内质网上核糖体所合成的蛋白质*

(1)运往细胞外的分泌蛋白。

(2)进入溶酶体腔形成溶酶体酶等。

(3)插入到内质网膜中，并随膜流进入内膜系统各区和质膜，形成它们的的组构成分。

(二)蛋白质运送的几种机制

除少数在线粒体和叶绿体中所合成的那些蛋白质外,游离核糖体和内质网膜上核糖体所合成的蛋白质,一般在其氨基酸序列中均含有分拣信号(sorting signal),决定它们的去向和最终定位,这种分拣机制称为蛋白质分拣(protein sorting)。通过连续的内膜系统运送使蛋白质达到其最终目的地的过程常称为蛋白质运输(protein transport)。具有专一分拣信号的蛋白质可以从细胞质溶质运送到核、内质网、线粒体、叶绿体或过氧化物酶体;分拣信号还能引导蛋白质从内质网进入到细胞内的其他终极场所。至于缺乏分拣信号的蛋白质则一直保留在细胞质中。

具有分拣信号的蛋白质在细胞内区间的运送大抵有3种不同的基本途径:

(1)孔门运输(gated transport):这是指细胞的核、质间蛋白质运输,细胞质溶质中核糖体合成的蛋白质就是通过核孔复合体运入核内的。

(2)跨膜运输(transmembrane transport):是通过结合在膜上的蛋白质转移器(protein transportor)穿过膜直接把蛋白质从细胞质溶质运送到细胞内的不同部位。与核孔运输不同,由这种途径运送的蛋白质必须去折叠(unfold)。这样,蛋白质更具柔韧性,可蜿蜒穿膜。例如在细胞质溶质中合成的蛋白质就是经过跨膜运输的方式进入线粒体、ER中的。细菌质膜中也有类似的蛋白质转移器(translocators)。

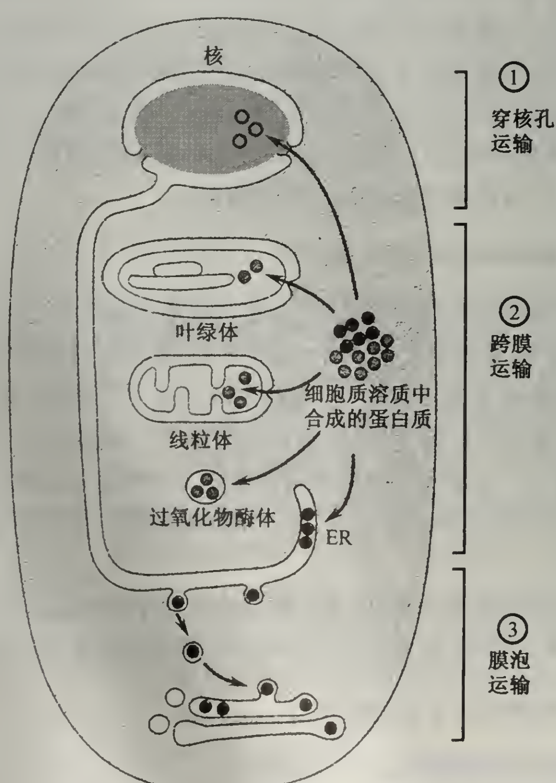


图14-66 蛋白质合成后的去向和途径

在细胞质溶质中合成的蛋白质进入膜围细胞器的3条途径,经①、③途径运输的蛋白质不需去折叠,经②途径的则需去折叠

(3)膜泡运输(vesicular transport):这是不同于前两种方式的一种运输机制。在这一运输途径中,要经过运输膜泡(transport vesicle)的过渡,把蛋白质从一个区间运送到另一个区间。这种膜泡是如同从供体膜上掐下来的小体,其腔内含有蛋白质。到达靶膜时,与含有受体的膜融合,卸下运载的蛋白质。例如可溶性的分泌蛋白便是通过这一途径从内质网运送到高尔基体中。

上述3种蛋白质运输途径的运作都需要消耗能量(图14-66)。

二、蛋白质运输的信号理论

(一)信号学说

在真核细胞中,核糖体有两种存在形式:一种是游离在细胞质中,一种是附着在糙面内质网和核膜外表面上。这些核糖体都属80S类型,是由细胞质中共同的核糖体亚基库(commen pool of ribosome subunits)的60S和40S大、小亚基,在进行mRNA翻译时临时装配而成。内质网上核糖体是以60S亚基附着在内质网的外表面上(图14-67)。为什么性质上一样,来源相同的核糖体,有的会结合到内质网膜上进行翻译活动呢?

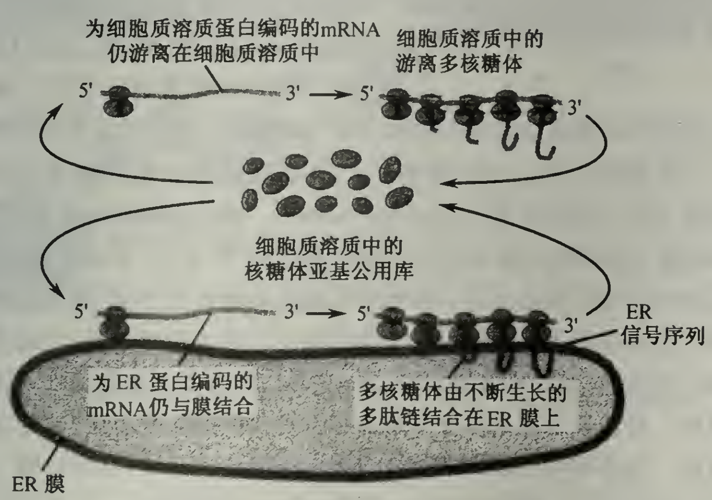


图14-67 蛋白质合成时,游离核糖体和膜结合核糖体均来源于共同的核糖体亚单位库
无论是存在于细胞质溶质中的蛋白质,还是进入膜围细胞器中的蛋白质,合成时都是利用共同的核糖体亚单位库中的亚单位组装成的核糖体进行翻译(自 Alberts, et al. 1998)

1971年G. Blobel和D. Sabatini首先对此作出了解释,他们认为新生的分泌蛋白的多肽链在结构上一定具有某些特点,能够使正在合成分泌蛋白多肽链的核糖体结合到糙面内质网膜上,从而提出了有关分泌蛋白合成机制的信号假说(signal hypothesis)。1975年,Blobel成功地破译了第一个信号肽序列,同时还提出在内质网膜上存在允许多肽链通过的通道,证实了那些被分泌到细胞外的蛋白质都将经过通道进入内质网腔。20世纪80年代初又发现了信号识别颗粒及其受体。在信号假说提出后的20余年中,随着新资料的积累,Blobel与他的合作者对信号假说不断作了补充,使这一

假说日趋完善，形成了一个系统的理论，详细阐明了在信号肽指引下细胞内蛋白质跨膜运送的分子机制。

信号学说认为，分泌蛋白、溶酶体蛋白和膜整合蛋白的翻译——穿膜活动同几种因素有关。首先，为分泌蛋白编码的 mRNA 普遍带有信号序列，即 mRNA 核苷酸链在紧接起始密码子之后有一段编码疏水性氨基酸的序列，称为信号密码子。信号密码子序列的翻译产物是信号肽(signal peptide)，长度为 10～30 个氨基酸不等。体外的实验证明，在无膜系统中合成的分泌蛋白确实带有信号肽序列。所有蛋白质的合成都是在游离核糖体上开始的，但非分泌蛋白，如血红蛋白其新生肽链没有信号序列，所以不能和糙面内质网膜结合。

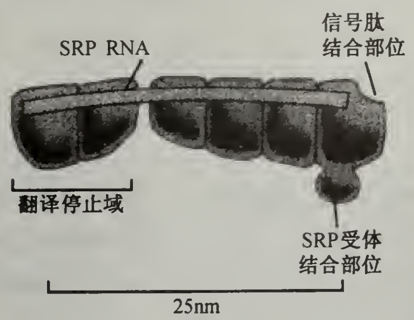


图 14－68　信号识别颗粒(SRP)结构图解
SRP 是由一条 7S RNA 和 6 个蛋白质亚基构成的复合体，蛋白质部分具有 3 个关键性结合部位，即：信号肽结合部位、翻译暂停功能域和 SRP 受体结合部位

此外，在糙面内质网膜中存在着一种蛋白质翻译耦联易位系统 (translation-coupled translocation system)，它与合成分泌蛋白的核糖体结合到糙面内质网膜上密切相关。已发现在这个系统中有两种成分，即信号识别颗粒(signal recognition particle, SRP)和信号识别颗粒受体(SRP receptor)。SRP 是 11S 的核糖核蛋白复合物，由 6 条不同分子量的多肽链和 1 条 7SRNA 组成 (图 14－68)。此 7S RNA 是存在于细胞质中的小细胞质 RNA (small cytoplasmic RNA, scRNA) 中的一种。SRP 存在于细胞质中，它的一端分别有与多肽链上信号肽结合的部位以及与 SRP 受体结合的部分；另一端则可与核糖体结合。当信号序列一从核糖体上伸出，SRP 就结合上去，翻译活动暂停。SRP 受体实际上是插在糙面内质网膜上的一种停泊蛋白(docking protein, DP)，由两部分组成，即嵌入膜内的疏水部分和暴露于细胞质的亲水部分。SRP 受体对 7S RNA 有识别能力。

20 世纪 90 年代初，Blobel 又以确凿的实验证据进一步证明，在内质网膜上存在允许多肽链穿过的蛋白质通道。如用电生理学测定流经孔的离子流，已检测到糙面内质网膜和质膜上的这种通道，其直径只有 2nm 左右，所以蛋白质跨膜时必须去折叠以线性方式通过膜。现已有分离出多种可能参与构建此通道的蛋白质，并用电镜技术研究了它们的结构。当带有生长着的多肽链的核糖体结合到内质网膜时，膜上的蛋白质通道开放，信号肽引导新生肽链穿过这一通道；蛋白质转移完成，核糖体从膜上移走之后，通道关闭，此时即检测不到离子流。

信号学说的正确性和普遍性已由许多实验所证实，无论是酵母细胞、植物细胞，还是动物细胞，新生肽链上都存在着信号肽，正是这段特殊的氨基酸序列决定蛋白质的去向和命运。各种膜性细胞器中的蛋白质的穿膜转运，都是靠信号序列的引导。

以信号学说为核心的细胞内蛋白质运输机制在生物学、医学的领域里影响广泛而深远，为了解某些遗传疾病的分子机制开辟了新的领域。如果一个蛋白质的信号序列出现变异，这种蛋白质的运送就极可能发生错误，不能发挥其应有的生物功能。已知的典型例证是遗传性的囊性纤维化，是蛋白质不能达到正确目的地所引起的疾患。随着对信号序列研究的不断深入，人们甚至可以通过 DNA 重组技术，利用

信号序列来构建新的蛋白质类药物，这样的药物可定向进入特定的细胞器中，能更有效地发挥治疗作用。

(二)指导蛋白质定位运转的信号序列

被运输的蛋白质一般都带有分拣信号,它可被细胞器上的受体蛋白所识别。分拣信号是一段连续的氨基酸序列，长达 15~60 个氨基酸。蛋白质运送到目的地后，分拣信号的任务即完成，信号序列就被相应的蛋白酶切去(图 14-69)。这样的分拣信号通常也叫做信号序列或前导序列(signalseguenee 或 leader sequence)。带有这种前导序列的蛋白质称为前体蛋白(preprotein)。相对于成熟蛋白来说，它只是一个短暂的前体。不同类型的信号序列可引导蛋白质在细胞内达到不同的目的地(表 14-8)。

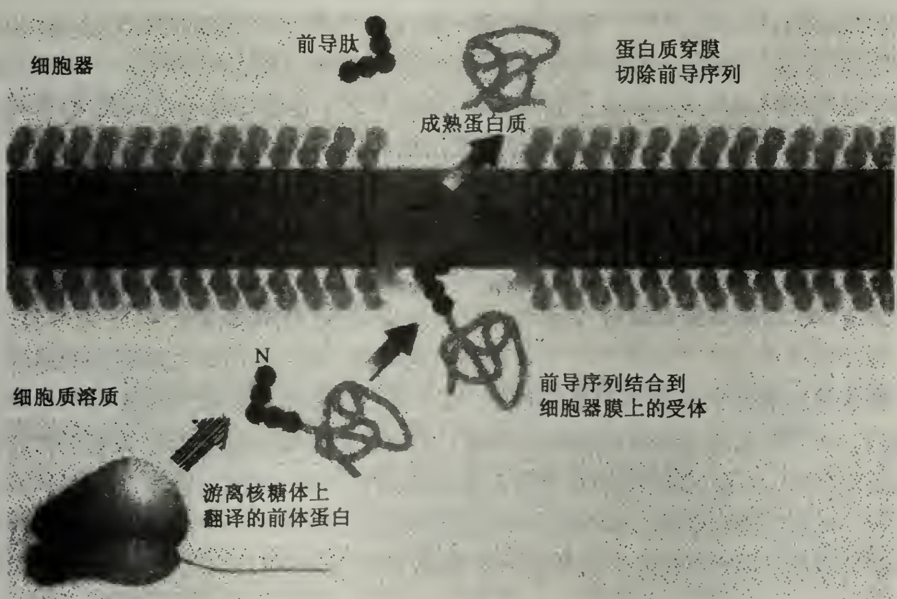


图 14- 69 前体蛋白信号序列对细胞器的识别

前体蛋白的信号序列对细胞器的膜有识别作用,它穿膜一进入细胞器即被切除

表 14-8 几种典型的信号序列

蛋白质抵达部位	信号序列所在位置	长度氨基酸数	序列举例
内质网腔	N-末端	20~80	+ H_3N - Met - Met - Ser - Phe - Val - Ser - Leu - Leu - Leu - Val - Gly - Ile - Leu - Phe - Trp - Ala - Thr - Glu - Ala - Glu - Gln - Leu - Thr - Lys - Cys - Glu - Val - Phe - Gln
内膜系统和可溶性蛋白	C-末端	~4	- Lys - Asp - Glu - Leu - COO^-
线粒体	N-末端	12~30	$^+$ H_3N - Met - Leu - Ser - Leu - Arg - Gln - Ser - Ile - Arg - Phe - Phe - Lys - Pro - Ala - Thr - Arg - Thr - Leu - Cys - Ser - Ser - Arg - Tyr - Leu - Leu -
核	内部	7~9	- Pro - Pro - Lys - Lys - Lys - Ary - Lys - Val -
过氧化物酶体	C-末端	3	- Ser - Lys - Leu -

注:带正电荷的氨基酸下方有横线,如Arg;带负电荷的氨基酸下方有黑点,如 Glu;延伸的一段疏水氨基酸用框(▭)表示

信号序列具有指导一种蛋白质定位到细胞内特定部位所需要的全部信息。例如把酵母线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 IV （Cox IV）的信号序列（由 25 个中性和碱性氨基酸组成）连接到鼠的细胞质溶质蛋白二氢叶酸还原酶（DHFR）上，杂合的 DHFR 蛋白便会定位到线粒体中。又如把进入 ER 的氨基末端信号序列连接到细胞质溶质蛋白的起始端，就会使该蛋白质改变运输方向，转而进入内质网。通常，专一定位于相同目的地的一些信号序列，即使在组成上有所不同，但却可具有相同的功能。这是因为信号序列的一些物理性质，如疏水性、带电荷氨基酸所在的位置等状况，要比氨基酸序列的精确性更重要。

三、分子伴侣在蛋白质折叠和运转中的作用

在对核小体组装的研究中人们发现，核质蛋白(nucleoplasmin)能促进 DNA 和组蛋白的正确组装，但其本身却不是组装产物－核小体的成分。于是，1978 年 R. A. Laskey 等首先应用“分子伴侣”一词来描述核质素在核小体组装过程中的作用。以后的研究进一步表明细胞内除核质蛋白具有上述功能外，还有另外一些蛋白质也可以催化、介导其他蛋白质的形成和保持稳定，并参与细胞内蛋白质的折叠、装配和运转等。1987 年 R. J Ellis 便把凡是能够促进其他蛋白质正确折叠和组装的一类蛋白质分子统称为分子伴侣(molecular chaperone)，并提出了分子伴侣的基本概念：在蛋白质折叠和组装过程中，分子伴侣能够防止多肽链链内和链间的错误折叠或聚集作用(aggregation)，并且还可以破坏多钛链中已形成的错误结构，但其自身并不参加最终产物的组成。

近年来有关分子伴侣在体外和体内的研究证实，在细胞内新生肽链的折叠以及变性方面或体外重组蛋白的再折叠过程中，分子伴侣都能防止无活性聚集物的形成。在细胞内，分子伴侣的底物既包括新生肽链，也包括变性蛋白以及已经具有天然构象的蛋白质大分子。可见，分子伴侣除与蛋白质的合成和成熟有关外，还参与一系列其他细胞过程，如蛋白质跨膜移位和运输、调控信息传递通路和 DNA 的复制及转录、参与微管形成和修复、各种应激反应以及蛋白质降解等。

（一）分子伴侣的类别

分子伴侣是进化上相当保守的一些蛋白质家族，目前已被确认的有热休克蛋白 60、70 和 90 等。它们广泛分布于原核细胞和真核细胞的细胞质、线粒体和内质网中（表 14－9）。热休克蛋白家族的这几种成员都是恒定型表达的蛋白质，是细胞正常生长和增殖所必需的。它们不仅在热激反应中表达，而且在其他种种非生理条件的环境中也可以合成，以适应环境的变化，保障细胞从应激状态恢复到正常的生理、生化状态。许多研究发现，在非热休克细胞中也存在着由热休克基因（*shp*）编码的类似蛋白质。由于分子伴侣在各种应激反应中能产生相应的热休克蛋白（heat shock protein），防止未折叠蛋白质的变性和促进蛋白质聚集物溶解和复性，使细胞在受到高温或其他异常因素影响时作出适当反应。最初，许多分子伴侣都是在热激反应中测定出来，故均称为热休克蛋白(Hsp)。

除表 14－9 中所列的 3 类热休克蛋白分子伴侣外，还有其他一些各具特点的分子伴侣，但在各种生物中不普遍，不属于热休克蛋白。例如钙连接蛋白(calnexin)，它是一

个 Ca^{2+} 结合蛋白，既可与膜蛋白结合，又能与可溶性糖基化分泌蛋白结合，在单体蛋白折叠和寡聚体组装中起作用；它在内质网中与其他分子伴侣相互作用，从而保证只有正确折叠或组装的蛋白才能运出内质网。

表 14- 9　几种主要的分子伴侣家族及在不同类型细胞中的分布

分子伴侣	原核生物	真核生物								
		酵母			果蝇	哺乳动物			植物	
	大肠杆菌	胞质	内质网	线粒体	胞质	胞质	内质网	线粒体	内质网	线粒体
Hsp60 (chaperonin－60)	GroE1			Hsp60 (Mif4p)				Hsp60 (Hsp58)		RuSBP
Hsp70 (Stress-70)	Dnak	Ssal-4p	Kar2p	Ssc1p (Bip)	Hsp68 Hsp70 Hsc1 Hsc2 Hsc4	Hsp70 (p73) Hsc70 (P72, CUATPase, Prp73)	Bip (Grp78)	Hsp70 (Grp75)	B70 (Bip)	
Hsp90 (Stress-90)	HepG (C62. 5)	Hsp83 Hsc83			Hsp83	Hsp90	Grp94 (Hsp83 Hsp87)	(Erp99 endolasmin)		

(二)分子伴侣的基本结构和作用机制

由于分子伴侣在细胞中具有特殊的生物学功能，近年来对这一领域的研究日益为人们所瞩目，其中了解得最为清楚的当属 Hsp70/Dnak 和 Hsp60/GroE 系统。

(1) Hsp70 分子伴侣系统：Hsp70 是进化上最保守的蛋白质之一。Dnak 是 Hsp70 家族中首先被确定的成员，它的相对分子质量为 70kDa，由 2 个结构域组成：一个是 N 端相对分子质量为 44kDa 的 ATPase 功能域（ATP binding domain），此功能域高度保守，包括 2 个大的球形亚功能域（Ⅰ和Ⅱ），二者被一个深的中央裂缝分开，而由两个交叉的 α 螺旋连接。另一个是 25kDa 的 C 端区域，它又可分成为一个保守的 15kDa 底物结合域和一个靠近 C 端的不太保守的 10kDa 的可变动功能域。N 端和 C 端两区域之间插有由氨基酸残基(第 386-393 位)组成的连接(linker)(图 14－70)。

Hsp70 N 端 ATPase 功能域具有水解 ATP 的活性，C 端的底物结合功能域则能够结合未折叠的多肽。Hsp70 以两种状态交替存在，一种是 ATP 结合态（ATP-bound state），另一种是 ADP 结合态(ADP-bound state)。前者与底物蛋白的亲和力低，而后者的亲和力高，只有处于 ATP 结合态时，Hsp70 才能与底物结合。ATP 的结合和水解能调节 Hsp70 对蛋白质底物的亲和力，而多肽和未折叠的蛋白质可以促进其 ATPase 活性。如果 C 端的底物结合功能域缺失，这种促进作用即随之丧失。由此可见这两个功能域对 Hsp70 的分子伴侣功能是至关重要的。通常，Hsp70 并不是单独作用，而有赖于另外两种辅伴侣(co-chaperone)的调节，共同行使其功能。如大肠杆菌 Dnak 的两个辅伴侣是 DnaJ 和 GrpE。DnaJ 是 41kDa 的热休克蛋白(Hsp40)能为 Dnak 提供蛋白质底物，并促进其 ATPase 活性；GrpE 为 22kDa 的热休克蛋白（Hsp20），它能借助 ADP 和 ATP 的交换，启动多肽的释放，所以 GrpE 又称为核苷酸交换因子。

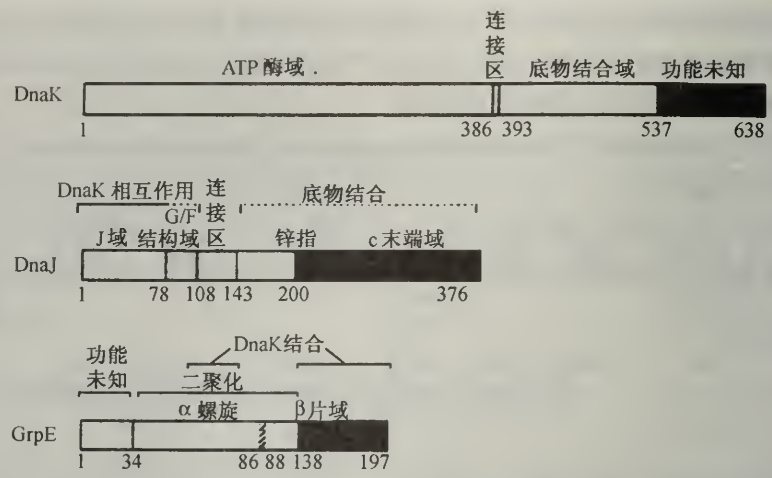


图 14-70　Dnak、DnaJ 和 DnaE 各域的结构和功能

残基数表示各功能域的边界。Dnak 中的第 386~393 残基组成 ATPase 功能域和底物结合功能域之间的连接。GrpE 中第 86~88 残基是长的 N 端 α 螺旋断裂，此处可与 Dnak 相互作用

Hsp70 的主要功能是防止蛋白质聚集和协助折叠错误的蛋白质重新折叠。此外它还有另外一些作用：①协助某些新翻译出的蛋白质折叠；②引导蛋白质穿过细胞器膜转运；③使寡聚蛋白质解装配；④促进不稳定蛋白质降解；⑤调控折叠了的调节蛋白(包括转录因子)的生物活性。

(2)Hsp60 伴侣蛋白系统：Hsp60 在不同的生物中有不同的名称，在线粒体中称为 Hsp60；在脊椎动物的细胞质溶质中的称为 TCP-1，而在细菌中的则称为 GroEL。在 Hsp60 家族中，大肠杆菌的 GroEL(称为伴侣蛋白，chaperonin)和 GroES(称为辅伴侣蛋白，cochaperonin)是最早确定并研究得最为深入的伴侣蛋白系统。体外和体内研究都证实，GroEL 和 GroES 在蛋白质折叠过程中可以防止形成聚集物，提高底物蛋白的正确折叠率。根据 X 射线衍射对结构进行测定，GroEL 是由 14 个亚基组成的寡聚体，这些亚基排列成方向相反的两个环，每个环由 7 个亚基组成，分离出的 Hsp60 寡聚体，经负染色在电镜下呈球形颗粒状，组成的亚基清晰可辨(图 14-71)。两个环彼此背靠背相接，构成具有中央空腔的筒状结构，腔的直径约 4.5nm

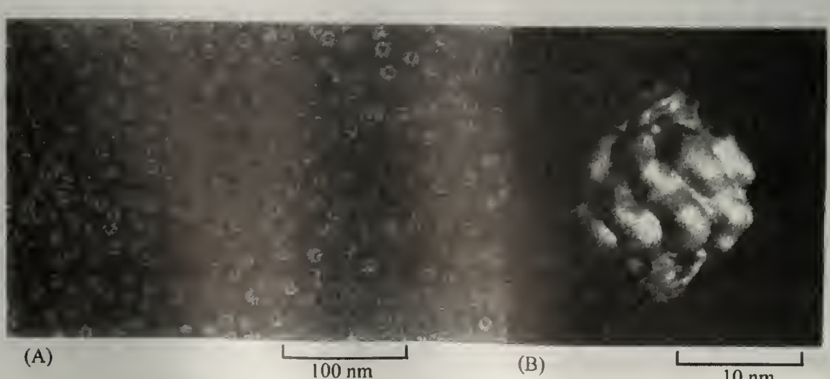


图 14-71　Hsp60 样分子伴侣结构电镜图

Hsp60 的电镜图像：(A)示为经负染的 Hsp60 颗粒群；(B)为根据电解图像用计算机描绘的单个 Hsp60 颗粒三维复型模型

(图 14-72)。此结构相当于蛋白质分子的“矫型中心”，当折叠不完全或折叠错误的蛋白质分子进入筒腔后，即可被处理折叠成正常的天然构象。折叠错误的蛋白质分子，其疏水性氨基酸暴露在分子表面，GroEL 通过疏水作用把底物蛋白结合在 GroEL 环的的空腔中。GroES 是相对分子质量 10kDa 的辅伴侣蛋白，为 7 个亚基组成的帽状结构，像一个圆盖子盖在 GroEL 双环筒中央腔的一端(图 14-73)。整个 GroEL/GroES 复合物的相对分子质量约为 10^6kDa。在 ATP 或 ADP 存在时，GroEL 和 GroES 结合成非常稳定的非对称复合物。虽然在指导折叠方面 GroEL 起主要作用，但 GroES 对 GroEL 的生化性质具有重要的调节作用，它可以提高 GroEL 结合和催化 ATP 水解的协同性，而且 GroES 与 GroEL 的结合和短暂解离有助于底物蛋白质周期性结合、释放和折叠。

在 GroEL 和 GroES 的相互作用中，底物蛋白与 GroEL 周期性地结合与释放。在每次结合期间，底物蛋白发生折叠，直到底物蛋白获得其天然构象后，GroES 才与 GroEL 解离，底物蛋白被释放。这个过程的进行是由 ATP 周期性的结合与水解所驱动，底物蛋白的释放依赖于 ATP 水解。在结合期间，底物蛋白折叠可产生两种结果：或是获得天然构象，或是形成错误折叠。如果底物蛋白出现错误折叠，则它可重新与 GroEL 结合；后者具有去折叠的能力，能够打开某些非共价键，于是底物蛋白又获得了一次重

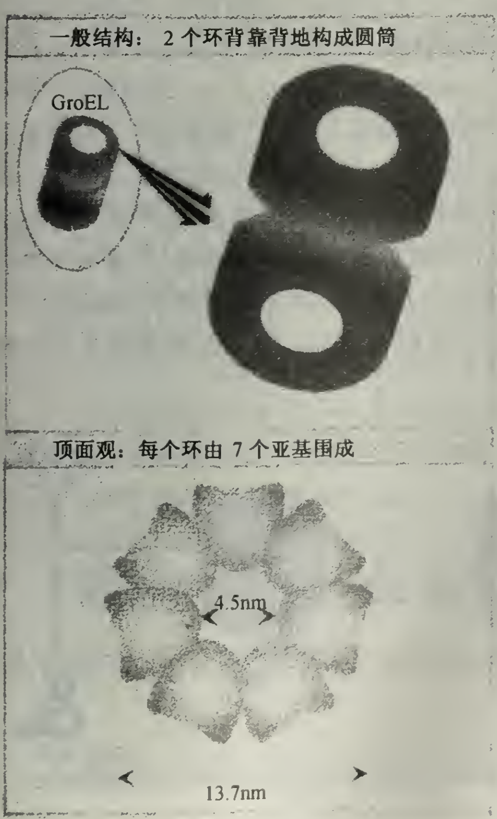


图 14-72　GroEL 形成一双环寡聚体，每一环是由 7 个亚基围成

两个环背靠背地构成一个中空的圆筒，下图为筒的顶面观

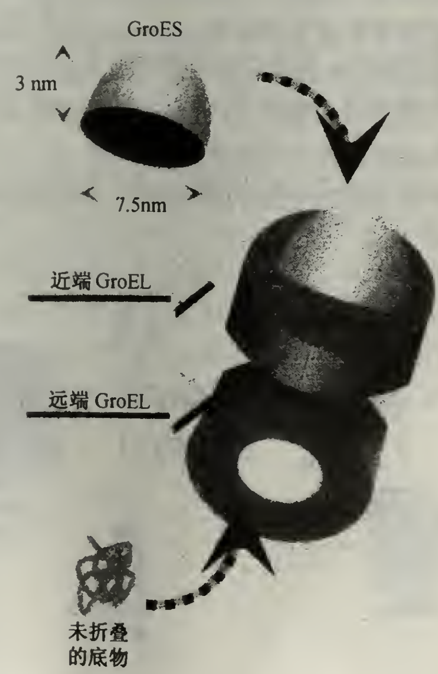


图 14-73　GroEL 双环背靠背地组合成一中空的圆筒，GroES 形成一圆帽盖在筒的一端蛋白质底物结合到远环的腔中发生折叠

新折叠的机会。GroEL 就是通过这种机制来保证底物蛋白最后获得天然构象。至于辅伴侣蛋白 GroES 的作用，除可以提高 GroEL 结合和催化 ATP 水解的协同性外，它与 GroEL 的结合还有促进底物蛋白释放的作用。

真核生物中的 Hsp60 与原核生物中 GroEL 的结构和功能基本类似。

(三)分子伴侣在蛋白质定位和跨膜运转中的作用

在细胞质溶质中游离核糖体上合成的蛋白质，除有些贮留在细胞质溶质中外，其他均须运送到细胞内的各种细胞器中。这些转运到线粒体、质体、内质网以及细菌细胞固定空间的蛋白质，都是以未折叠或部分折叠的构象穿过膜到达其行使功能的部位。因此在运送时前体蛋白必须保持其伸展构象，并不得聚集变性和降解，以便于向细胞器中运输。

一般，在细胞质溶质中，当新生的多肽链从核糖体上一出现，胞质中的 Hsp70 家族成员即可与这一前体蛋白相互作用，防止在合成前发生错误折叠，并使其处于非折叠的柔韧状态。随后，那些尚未正确折叠的蛋白质 Hsp60 进一步加工折叠，形成有功能的正确折叠的蛋白质(图 14－74)。分子伴侣不仅能防止新生蛋白的折叠，还能参与蛋白质的转移过程，并帮助线粒体和内质网中新输入的蛋白质正确折叠，保持一定构象。例如，前体蛋白和一种细胞质分子伴侣——线粒体输入刺激因子 (mitochondrial import stimulating factor) 构成复合物后，再同线粒体上的输入受体 (import receptor) 结合，前体蛋白才进入线粒体膜的输入通道 (又称转移器，translocators)，通道在内、外膜中各有一部分。一些实验证明，Hsp70 以一种类似棘轮 (ratchet) 旋转的分子机制来促进多肽在蛋白质通道(proteinaceous channel)内滑过。多肽的前导链在线粒体腔内一露头，基质中的另一种 Hsp70(mHsp70) 立即与多肽链的适当片段结合，这样既可防止其后退滑回细胞质，又可便于有更多的 mHsp70 与肽链结合，拖拽前导链，将整条未折叠的多肽链拖进线粒体基质中(图 14－75)。在这一过程中，mHsp70 必须既与肽链结合，同时又和线粒体内膜接触，这样的排列方式才能使 mHsp 70 通过构象改变产生拖

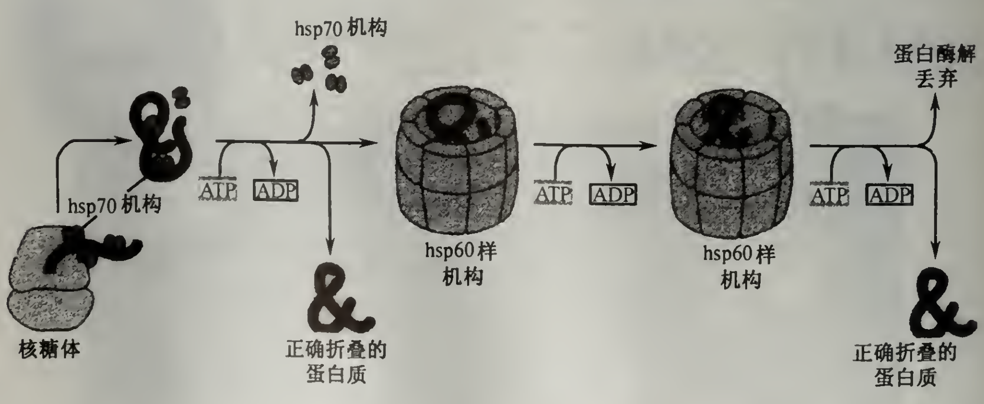


图 14－74　Hsp70 和 Hsp60 相互配合对新生蛋白质正确加工折叠的示意图

Hsp70 对新生蛋白质表面的小识别斑有识别能力，它先与蛋白质作用。随后 Hsp70 对尚未正确折叠的蛋白质再进一步加工折叠，使其成为具有正确折叠的蛋白质。在这些作用这程中 Hsp 蛋白通过水解 ATP 变化，发生与蛋白质结合和分离的周期变化

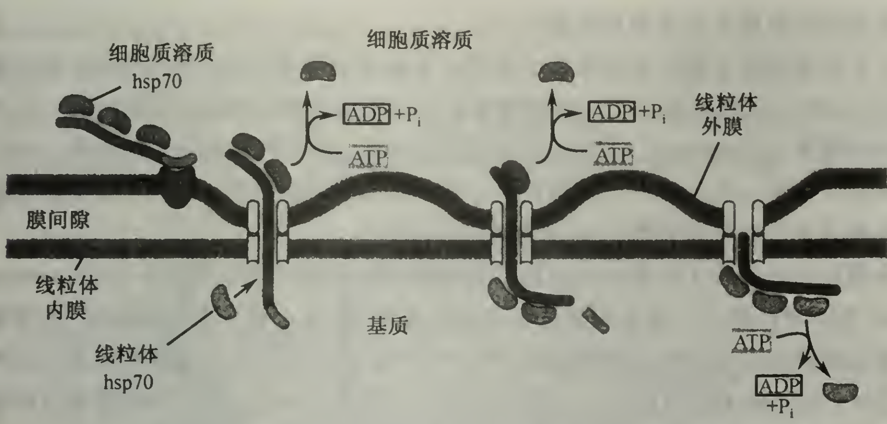


图 14－75　Hsp70 在蛋白质向线粒体中输入的作用示意图

信号肽插入后，肽链随之穿过双层膜通道伸入基质，mHsp70 将肽链拽入基质

力。目前已知位于线粒体转移器上的内膜蛋白，能促进多肽链和 mHsp70 的结合，从而参与蛋白质的运输过程。mHsp70 对未折叠的多肽链具有高度亲和力。随后，mHsp70 利用水解 ATP 提供的能量，将多肽链释放。这种结合／释放的耗能循环是蛋白质进入线粒体的驱动力。于是在 mHsp70 的作用下，便把未折叠的蛋白质拖入基质中。然后，未折叠的蛋白质被转交给线粒体 Hsp60(mHsp60)，由 mHsp60 指导蛋白质折叠成正常的自然状态。

翻译中的多肽链向内质网中的输入机制与线粒体蛋白质相似，Hsp70 也需要与跨膜蛋白 Sec63p 连接，并相互作用，促进多肽进入内质网。

多肽链跨膜进入线粒体基质或内质网后还必须折叠和组装成天然构象，才能行使功能。例如，线粒体基质内的 mHsp60 参与了此过程。mHsp60 所介导的蛋白质折叠依赖于 ATP 且需要有辅伴侣蛋白 GroES 的协助。

核磁共振的研究表明，Hsp70 家族中 Dnak 所结合的多肽呈伸展状态，而伴侣蛋白 GroEL 则是与处于较高折叠状态的底物蛋白结合。把 Hsp70 和 Hsp60 的功能联系起来，可知在蛋白质运输和定位中，前者的作用是结合与稳定新合成的多肽链，维持其非折叠或部分折叠的状态。一旦肽链合成完成，就将其释放。这种被释放的多肽链立刻被伴侣蛋白捕捉并催化它们正确折叠成天然状态，必须定位到所在的细胞器内。可见，一个多肽的合成链依赖于一个或多个分子伴侣的依次作用，最后使该多肽链折叠成有特定三维结构和具有生物功能的蛋白质分子。

四、内质网途径的蛋白质合成及其命运

(一)内质网膜上核糖体合成的蛋白质及其特点

真核细胞中的细胞质溶质蛋白、核蛋白、线粒体蛋白以及叶绿体蛋白主要是由细胞质溶质内游离核糖体合成，随后送到相应的细胞器或继续留在胞质内。除此之外，很大一部分蛋白质是由糙面内质网外膜上的核糖体合成，通过细胞的分泌途径最终定位

到细胞内的特定地位或分泌到细胞外。

关于内质网膜表面上多核糖体合成蛋白质的研究资料，最初是从离心出来的微粒体研究出来的。微粒体表面上的多核糖体亦可合成多肽链。如果在合成时加入抗生素——嘌呤霉素 (puromycin)，便可使多肽链停止延长，并从核糖体上释放出来。由于所释放的嘌呤霉素 - 多肽链存在于微粒体小泡的内部，因此推测，细胞内糙面内质网表面上核糖体合成的多肽链随之向内质网腔内延伸。

在糙面内质网膜上核糖体合成的蛋白质有两种类型：即跨膜蛋白 (transmembrane protein) 和水溶性蛋白。通常跨膜蛋白只是部分穿膜，插入膜中成为膜蛋白，多数随膜流转变成质膜或其他细胞器的膜成分。至于水溶性蛋白质则完全穿膜释放到内质网腔中，这些不同的新生蛋白质除一小部分存留于内质网腔中外，大部分都要通过膜腔外运，进入其他细胞器腔或排到细胞外。如血浆蛋白和一些蛋白酶原等。

尽管所有由内质网膜核糖体合成的蛋白质以后的命运有所不同，但它们在合成和运送中都具有某些共同的特点。首先，它们都具有相同类型的信号肽，能指导它们同膜结合，并穿过内质网膜；其次，这些蛋白质的穿膜过程和多肽的延伸相结合，翻译与转移同步进行，是以共翻译转移的形式完成蛋白质的合成过程。

(二)可溶性蛋白质的合成和转移

分泌蛋白的生物合成像细胞质溶质中的蛋白质一样，最初是在游离核糖体上开始的，当翻译进行到 50 ~ 70 个氨基酸残基之后，信号肽从核糖体的大亚基暴露，存在于胞液中的 ER 信号识别颗粒立即与信号序列及核糖体结合，并引起核糖体上的蛋白质合成减速。随后，结合有核糖体的信号识别颗粒与嵌合在 ER 膜上的信号识别颗粒受体结合，核糖体则与膜中的核糖体受体结合，SRP 被释放，回到细胞质中再循环。SRP 与核糖体分离后，核糖体上的蛋白质合成恢复。于是正在合成的多肽链通过内质网膜中的转移通道(translocation channel)穿入内质网腔(图 14 - 76)。

看来，在肽链转移过程中，SRP 和 SRP 受体的功能有如分子媒介，是它们把正在合成含有信号肽序列的肽链的核糖体与内质网膜上的转移通道连接起来。

核糖体 - mRNA - 信号识别颗粒复合体结合到内质网膜之后，大多数位于可溶性蛋

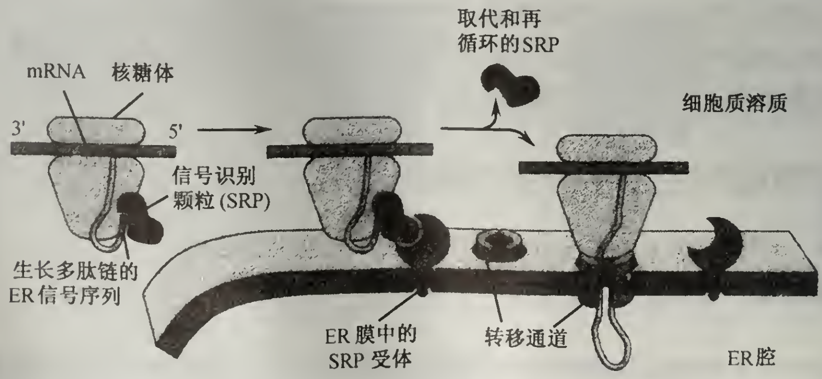


图 14 - 76　信号肽序列和 SRP 引导核糖体结合到内质网膜示意图

SRP 与信号和核糖体结合，减慢蛋白质合成。然后，SRP/核糖体复合物与 ER 膜上的 SRP 受体结合，SRP 随之离去。核糖体则留在 ER 膜上继续合成蛋白质。蛋白质经转移通道伸进入 ER 腔

白氨基末端的信号肽序列还附带有开启转移通道的功能，而且在合成的多肽链完全穿过膜之前，信号肽序列一直结合在通道上（图 14－77）。当信号肽牵引的肽链完全进入 ER 腔之后，信号肽序列被内质网腔中的信号肽酶切断，并从转移通道释放到脂双层中，随即被降解成氨基酸。一旦肽链的羧基端穿越过膜，肽链便完全进入到内质网腔，转移完成。

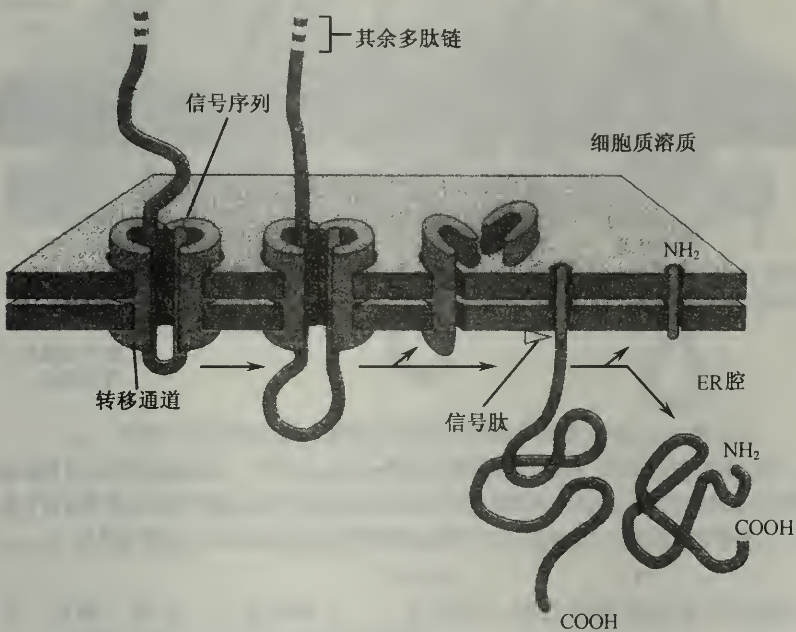


图 14－77　可溶性蛋白跨膜转移进入内质网腔

当在 ER 膜上合成的可溶性蛋白质向腔内转移时，转移通道侧面开口，让信号肽移出通道进入脂双层，信号肽酶将信号肽切掉，可溶性蛋白被释放到腔中

蛋白质合成结束，核糖体的大、小亚基相互解离，离开糙面内质网膜。这时蛋白质通道关闭，内质网膜也恢复原先结构。

（三）膜整合蛋白的定位机制

进入内质网的蛋白质除释放到内质网腔内的以外，还有些是嵌入到膜中的跨膜蛋白。这些跨膜蛋白远较可溶性蛋白的转移过程复杂，其肽链中一些片段必须穿过脂双层，而另外的一些则保留在膜中。

具有单一跨膜片段的跨膜蛋白，转移过程最为简单。像可溶性蛋白一样，转移的开始，是由肽链氨基末端的信号肽序列发动。但是，这一转移过程可被肽链中的另一段疏水氨基酸序列所阻断，使肽链不能再继续进入膜中。这第二个疏水氨基酸片段就称为停止－转移序列（stop-transfer sequence），此序列在进入转移通道后即被释放，从转移通道横移到脂双层中，并形成一个 α 螺旋状的跨膜片段，把蛋白质锁定在膜内。同时氨基端的信号序列也从通道释放到脂双层内并被切除。结果转移的蛋白质便被作为一个跨膜蛋白定向插入膜中，氨基端朝向脂双层的腔内侧，而羧基端则朝向细胞质（图 14－78）。由此看来，内质网膜上的转移通道是以两个方向开放的：既作为跨膜的孔道

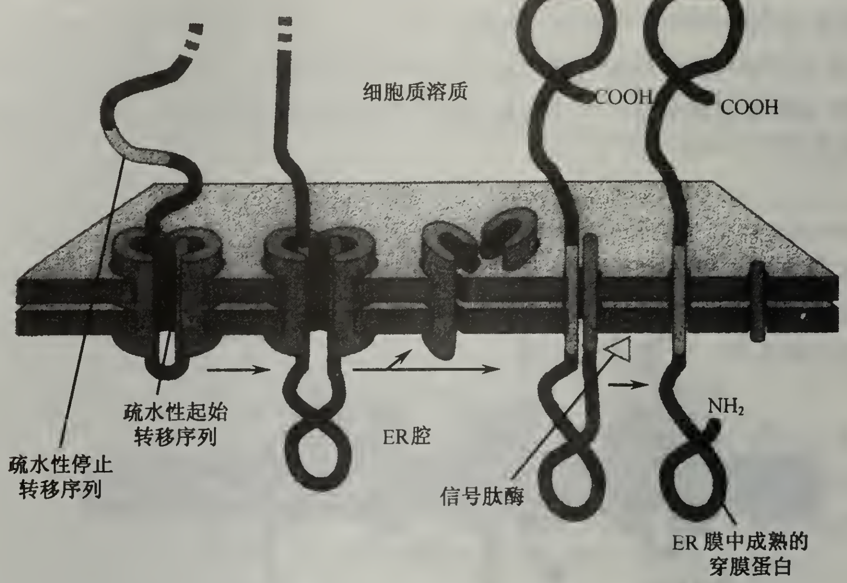


图 14－78　跨膜蛋白整合到内质网膜中的变化机制示意图

氨基端的一个信号肽序列起始转移。另外,该蛋白质还有第二个疏水序列——停止转移序列,当肽链进入转移通道,通道侧面开口把蛋白质卸下,让蛋白质横移到脂双层中,而后氨基端信号序列被除,转膜蛋白靠停止转移序列被嵌合在膜中。细胞质一边的蛋白肽链继续合成完成,形成一次跨膜蛋白

开启,又能横向开放把转膜蛋白插入脂双层。一个跨膜蛋白一旦插入膜内,其方向就不再改变,在以后的膜泡出芽和融合时也一直保持不变。

有些跨膜蛋白,是由一个内部信号序列而不是氨基末端的信号肽序列来启动转移,但这些内部信号序列并不被切除。这些跨膜蛋白中的这种组成形式使肽链来回反复穿过脂双层。这种情况下,疏水的信号序列是成对行动,一个内部信号序列用来起始转移,另一个是停止转移序列。起始转移序列与转移器结合后,一直等到一个停止转移序列进入转移器时,这两个 α 螺旋的疏水序列才被释放到脂双层中,形成两次穿膜的跨膜蛋白(图 14－79)。

在多次穿膜蛋白中有更多成对的起始和停止转移序列在起作用,多个疏水的 α 螺旋横跨脂双层。如此往返穿梭,使跨膜蛋白在合成完成之前,多次横移入膜,成为多次跨膜蛋白(图 14－80)。

(四)进入内质网腔内的蛋白质的命运

已转移到内质网腔内的多肽链通常还要进一步折叠、组装和修饰、它们的最终命运不同,或保留在内质网腔,或定位在特定的亚细胞结构内,或分泌到胞外。这主要取决于多肽链中氨基酸序列中所包含的定位信息,另方面也取决于多肽链的修饰状态。

1. 内质网驻留蛋白(ER resident protein)

驻留在内质网中的蛋白质在其羧基末端常有一个由 4 个氨基酸组成的驻留信号序列,动物中驻留蛋白的信号多是由 Lys－Asp－Glu－Leu 组成,酵母中则为 His－

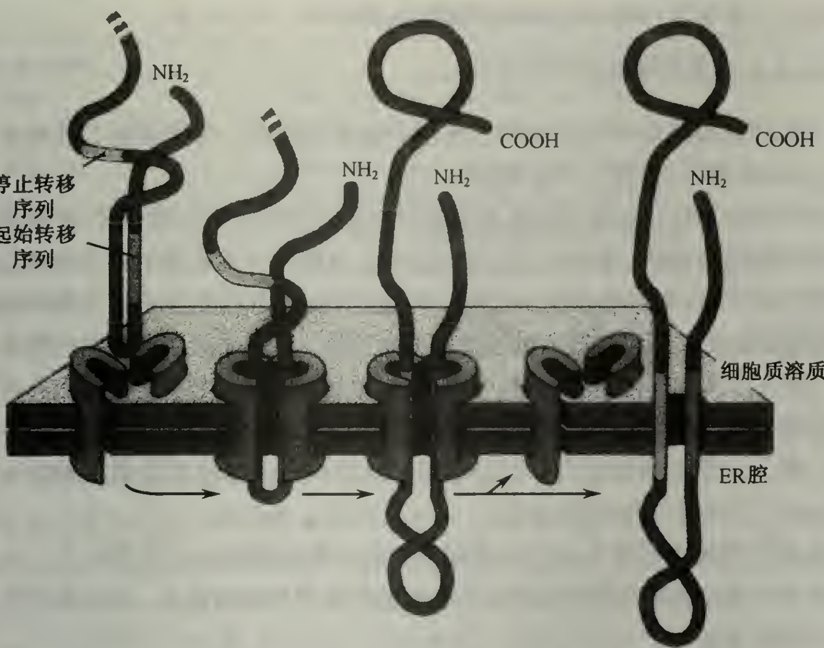


图 14－79 具有内部信号的肽链整合到内质网膜中的两次穿膜蛋白

肽链中含有两个疏水性氨基酸序列，一个为内部信号序列，作为起始转移信号起始肽链转移；另一个为停止转移序列。当停止转移序列进入转移通道时，通道侧面开放，两个序列转移到脂双层中。起始和停止转移的两个序列都保留在肽链中，整个肽链作为一个双次穿膜蛋白嵌合在膜中。多次跨膜蛋白有更多的起始和停止转移序列，重复此过程

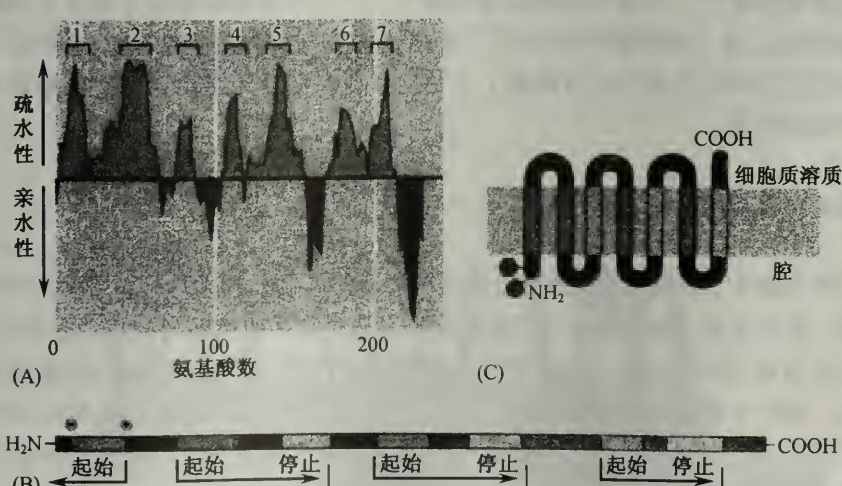


图 14－80 多次穿膜蛋白视紫红质（rhodopsin）嵌入 ER 膜示意图

（A）视紫红质蛋白中含有 7 个相同的短的疏水区；（B）最靠近氨基端的疏水区具有起始转移序列的作用，后面的疏水区则分别起起始转移序列和停止转移序列的作用；（C）经 7 次穿膜，视紫红质的氨基端伸向 ER 腔，而羧基端则伸向细胞质溶质

Asp－Glu－Leu 序列，植物中序列不固定。这些蛋白质的功能是作为催化剂，协助进入到糙面内质网腔中的其他蛋白质正确折叠和组装。如蛋白质二硫异构酶（protein disulfide isomerase）和结合蛋白（binding protein, Bip），前者催化游离的硫氢基（SH）氧化形成二硫基（S-S）；后者实际上是一种伴侣蛋白，是新生肽链正确折叠必需的（见前

文),同时对于寡聚蛋白的形成也起着重要作用。

2. 新生肽链在糙面内质网腔中的修饰加工

进入糙面内质网腔中的许多蛋白质都只是途经此腔，在修饰加工后被输送到其他部位,如分泌蛋白、植物中的液泡蛋白。

大部分分泌蛋白或运输到细胞其他部位的蛋白质都需进行糖基化,形成糖蛋白。在分泌物中和膜构成中,糖蛋白是主要的组分,细胞的许多重要生理功能都是和糖蛋白的作用分不开的,如细胞识别、表面受体、胞内消化、外排的分泌物等都和糖蛋白有关。糖蛋白是由蛋白质和糖链两部分组成的复合物。它是在糙面内质网核糖体上合成的肽链，进入内质网腔中加上糖链，形成最初的糖蛋白复合物，然后再在内质网腔和高氏体中进一步加工修饰,形成成熟的糖蛋白(详见第六章和第八章)。在内质网上合成的蛋白质，大部分为糖蛋白，而在细胞质溶质中合成的可溶性蛋白质则不加接糖基。

糖基化作用对于指导大分子运送到细胞内的其他部位也有重要意义。在核糖体上合成多肽链进入糙面内质网腔内,经过糖基化作用等修饰之后,通过细胞的分泌途径运输到目的地。

五、游离核糖体上合成的蛋白质的归宿

在细胞质溶质核糖体上合成的多肽，除部分贮留在细胞质中外，多数最终要被运送到靶细胞器中，形成有功能的成熟蛋白，它们在很大的程度上决定了细胞器的结构与功能。由于细胞器种类不同，相应蛋白质到靶细胞器的定位过程也不尽相同。但它们的转运机制与内质网膜上合成的蛋白质的转运基本相同，都须要有肽链信号序列的引导。

(一)核定位蛋白的入核转运

真核细胞中,细胞核的核被膜是由内外两层同心圆状的膜所组成,其间的空隙为核周腔。核孔贯穿于核被膜。一个核孔是由多达百余种蛋白质所构成的复杂结构,称为核孔复合体(见第七章)。它类似门径,是细胞内核质之间物质交换、信息交流的主要通道。核孔中央有一个内径为 20nm 左右的中空管子,能允许分子量为 6×10^5 以下的蛋白质分子自由通过。胞质中合成的一些多肽进入细胞核的过程还要依赖于蛋白质本身所携带的核定位信号(nuclear localization signal, NLS)。

大部分亲核蛋白质本身都具有核定位信号序列，这些序列是一些由一定的氨基酸组成的短肽。典型的核定位信号由 4 ~ 8 个氨基酸残基组成,其中富含带正电荷的赖氨酸和精氨酸,且常含脯氨酸。也有定位信号是由短的疏水区域组成,但其中至少含有一个碱性氨基酸残基(如 Lys – Ile – Pro – Ile – Lys 序列)。还有些定位信号则是由两个碱性氨基酸区域构成,其间至少间隔有 4 个氨基酸残基(表 14 – 10)。不同的亲核蛋白,核定位信号存在于肽链的不同区域,但都可引导整个蛋白质通过核孔复合体输入细胞核。实验证明，核定位信号发生突变或缺失会导致亲核蛋白质积累在细胞质内;如果将核定位信号与非亲核蛋白质融合,则反而可使这种蛋白质被输入到细胞核内。

表 14－10 富含碱性氨基酸残基的核定位信号

蛋白质名称(来源)	核定位信号的氨基酸序列
SV40 T 抗原	Pro－Lys－Lys－Lys－Arg－Lys－Val
多瘤 T 抗原(1)	Pro－Lys－Lys－Ala－Arg－Glu－Asp
多瘤 T 抗原(2)	Pro－Val－Ser－Arg－Lys－Arg－Pro－Arg－Pro
SV40 VP 1	Ala－Pro－Thr－Lys－Arg－Lys－Gly－Ser
核质蛋白	Lys－Arg 10 氨基酸 Lys－Lys－Lys－Lys
R NLSA(玉米)	Gly－Asp－Arg－Arg－Ala－Ala－Pro－Ala－Arg－Pro
R NLSM(玉米)	Met－Ser－Glu－Arg－Lys－Arg－Arg－Glu－Lys－Leu
R NLSC(玉米)	Met－Ile－Ser－Glu－Ale－Leu－Arg－Lys－Ala－Ile－Gly－Lys－Arg

由此可见核定位信号是蛋白质入核所必需的关键序列。蛋白质进入核后,核定位信号序列并不切除,而是成为蛋白质的永久构成部分。

新合成的核蛋白在向细胞核运输的过程中,还需要胞质溶质中称作为核输入受体(nuclear import receptor)的蛋白质予以协助。它在细胞质中同蛋白质上的核定位信号序列结合，并与伸入胞质的核孔纤维相互作用，导引该核蛋白到达核孔，而后，藉助GTP 水解过程所释放的能量,该核蛋白同其受体一起穿过核孔主动输入细胞核内。在核内二者解离,然后核输入受体再经核孔返回胞质,被重新利用(图 14－81)。核孔的中央结构的功能类似于一个关闭的栅栏，它开启一定口径，允许恰当大小的蛋白质复合物通过。但对这种门径机制的分子基础,以及如何将那些大分子物质经核孔复合体进行双向运输的机制还不清楚。

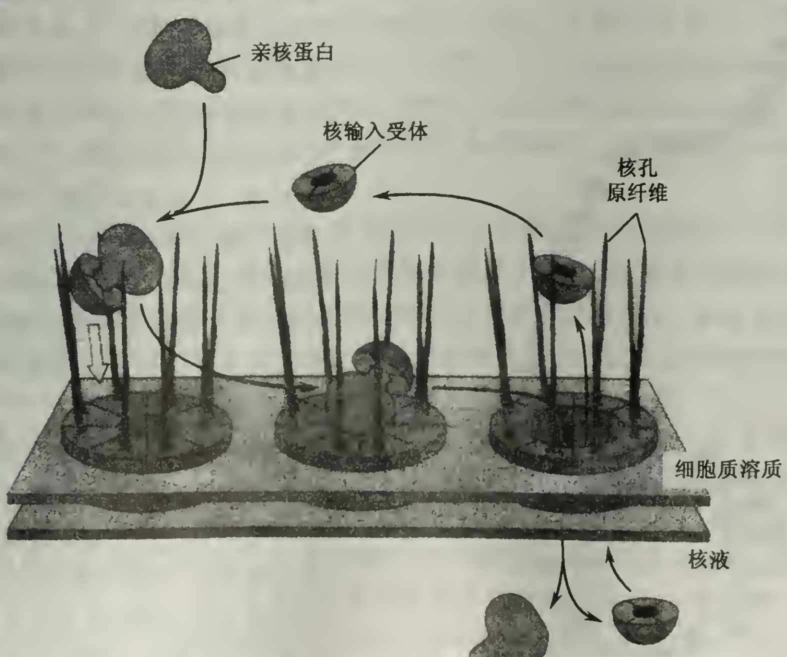


图 14－81 核蛋白质通过核孔主动运输机制示意图

核蛋白由细胞质溶质进入核的过程大体上可分为三步：①存在于细胞质溶质中的专一性核输入受体与预定的核蛋白结合成复合物；②复合物与核孔伸出的原纤维结合，移向核孔；③核蛋白与核孔结合，打开核孔，复合物穿过核孔进入核。复合物进入核后，核输入受体与核蛋白分离，受体经核孔返回细胞质溶质，再参加另一轮的核蛋白向核输入的过程

(二)线粒体和叶绿体蛋白质的跨膜运送

线粒体和叶绿体都是由内、外双层膜包被的细胞器，叶绿体还含有第三个膜系统——类囊体膜(见第十、十一章)。虽然线粒体和叶绿体均具有各自的基因组，并可合成本身的某些蛋白质，但构成它们的大多数蛋白质是由核基因编码，并从细胞质溶质输入。这些蛋白质包括有内膜和外膜整合蛋白、边周蛋白，在呼吸作用和光合作用中催化能量传递反应的酶，50 几种细胞器核糖体蛋白以及 DNA、RNA 聚合酶等。这些蛋白质不仅要进入细胞器，而且还要抵达一定的空间结构部位。它们的合成和输入细胞器大体上要涉及到 4 个步骤：①在细胞质溶质中合成多肽前体物；②前体物和细胞器表面的受体结合；③穿过并移进细胞器膜；④前体物被加工成成熟多肽。这几个步骤对命运不同的细胞器蛋白虽有差异，但有些蛋白质进入细胞器的跨膜运动也是利用信号机制。

1. 线粒体蛋白的跨膜运动

(1)线粒体蛋白的前导序列及其受体:由胞质溶质运送到线粒体或叶绿体的蛋白质,输入前是以前体蛋白的形式存在。前体蛋白在氨基端有一段信号序列。各种信号序列的长短不等,约为 20~80 个氨基酸残基(见表 14-8),它们对于线粒体蛋白质的跨膜转运送起着关键的作用。

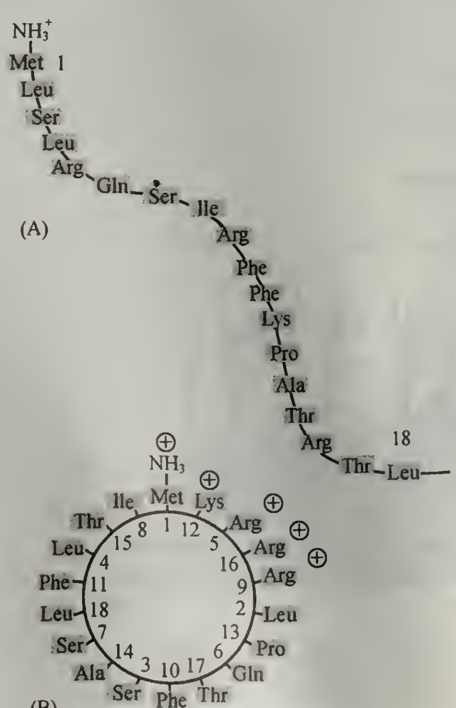


图 14-82　线粒体蛋白输入的信号肽

(A)细胞色素氧化酶亚基Ⅳ的头 12 个氨基酸起穿膜运输的信号肽作用；(B)当此段氨基酸卷成 α 螺旋时，带正电荷的氨基酸集中在螺旋的一侧，而非极性氨基酸则集中在相对的另一侧

线粒体前导序列的特点是：①含有较为丰富的带正电荷的碱性氨基酸(特别是精氨酸)，穿插在不带电荷的氨基酸序列之间，对牵引蛋白质跨膜具有重要作用；②不含或基本不含带负电荷的酸性氨基酸；③序列中羟基氨基酸（尤其是丝氨酸）的含量较高；④整个前导序列可形成既具亲水性又具疏水性的两性(amphipathic)α 螺旋，这样,可凭藉外正内负的膜电位,使前导肽及其所牵引的蛋白质得以顺利过膜(图 14-82)。

线粒体蛋白质前导序列跨膜运送时，首先被其外膜上的受体蛋白识别并相互结合，在电化学梯度的势能驱动下跨过内、外膜的接触点(membrane contact site）而后藉 ATP 水解提供的能量进一步进入线粒体基质（图 14-83)。外膜受体的存在首先是从粗糙脉孢霉（*Neurospora*）中分离的两种线粒体外膜蛋白 19 和 72(mitochondrial outer membrane, MOM19 和 MOM72)

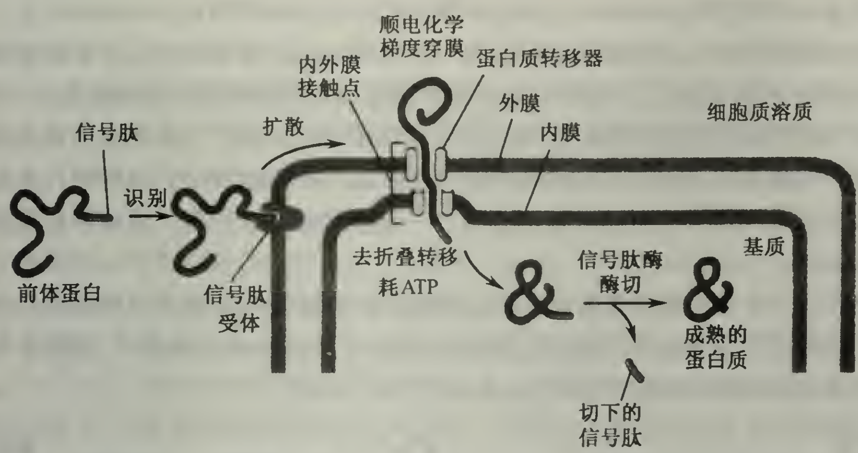


图 14－83 蛋白质输入线粒体基质示意图(自 Alberts, et al. 1988)

线粒体蛋白的氨基端信号肽序列可被位于线粒体外膜中的受体所识别。蛋白质在内外膜接触处穿膜进入基质，蛋白质转移的动力来自跨内膜的电化学梯度和水解 ATP。蛋白质进入基质后，信号肽被基质中的信号肽酶切除，并随之降解

而得到证实。它们能分别与某一类线粒体前导序列相结合便于穿过外膜。只是实验结果也显示每一种前导序列不存在严格专一的受体。另外，还发现在外膜上有一种插入蛋白(general insertion protem, GIP)，能促进线粒体前体蛋白插入内外膜的接触点。目前已知参与蛋白质输入和运送的一系列的内、外膜蛋白质，如 MOM22、38、30，以及线粒体内膜蛋白 17、23(mitochondrial inner membrane MIM 17, MIM23)等。

当线粒体前体蛋白被运送通过内膜之后，它的前导序列就被基质中的线粒体多肽加工酶(mitochondrial processing peptidase, MPP)和加工增强蛋白(processing enhancing protein, PEP)两种酶所水解，使前体蛋白转变为成熟蛋白。在这两种水解酶中，后者可增强前者的活性。

(2) 线粒体跨膜蛋白的分拣定位：跨越线粒体双层膜的蛋白质还需进一步分别定位于内、外膜和膜间隙。那么，是什么指导线粒体蛋白分别到达其终极目的地?线粒体前导序列的不同部位在蛋白质的跨膜运输过程中发挥着不同的作用。也就是说，前导肽不仅能引导其所在蛋白质进入线粒体，而且还含有指导蛋白质到达细胞器中的一些空间结构部位的不同导向信息。

对细胞色素 C_1 前导序列的研究表明，它共含有 61 个氨基酸残基 (35 个碱性氨基酸 + 19 个不带电荷氨基酸 + 7 个酸性氨基酸)。将其中为 35 个碱性氨基酸残基编码的 DNA 片段与小鼠细胞质中的二氢叶酸还原酶(DHFR)基因相融合，合成的杂合蛋白能把 DHFR 跨膜运送到线粒体基质中，但不能定位于膜间隙。只有连接有细胞色素 C_1 的前导序列中的 54 个 (35 + 19) 或全部氨基酸残基的 DHFR，才能被运送到内、外膜之间。这表明细胞色素 C_1 前导序列的不同肽段含有不同的导向信息，即导向基质与膜间隙的信息。近年的研究发现，进入内膜或膜间隙的线粒体蛋白需要有两个信号肽。在定位过程中，经过两次跨膜，其前导序列还要进行两次切割。首先，这些前体蛋白(如细胞色素 C_1) 中前导序列的基质信号引导该蛋白质穿越双层膜进入线粒体基质，随即基质信号被基质中的信号肽酶水解，于是前导序列的膜间隙信号便成为新的氨基末端，它

促使该蛋白质前体再从基质进入内膜或跨过内膜进入膜间隙(图 14 - 84(A))。

蛋白质前体进入内膜或膜间隙的另一条途径，则是带有全部信息的前导肽跨过内外膜时并不进入基质，只是导向基质信号被酶切，膜间隙信号肽段则成为一个“停止转运”信号结合在内膜受体上，阻止蛋白质前体跨过内膜，并将蛋白质前体的其余部分牵引到膜间隙。最后，导向膜间隙信号也被蛋白酶切除(图 14 - 84(B))。看来不同的线粒体蛋白可能采用这两条输入途径之一进入内膜或膜间隙，但尚不知是哪一条更为普遍。

已经定位于膜间隙的蛋白质，许多又被信号肽酶切割，而成为可溶性蛋白的成熟构型。这些蛋白质最终成为膜边周蛋白(peripheral membrane protein)，附着于内膜外侧成为跨膜蛋白复合物的亚基(图 14 - 84(C))。

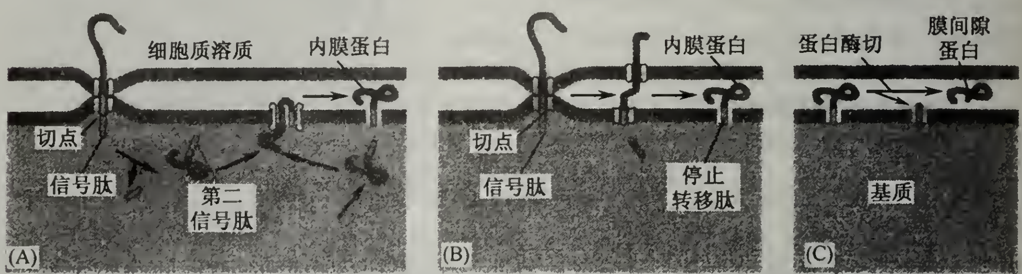


图 14 - 84　定位于线粒体内膜和膜间隙的蛋白质输入方式示意图

(A)肽链含有两个信号肽序列，蛋白质先进入线粒体基质，再穿过内膜，进入膜间隙；(B)另一条途径是，多肽链的信号肽穿膜进入基质后即被切除，紧跟信号肽后面的停止转移信号序列插在内膜中，其余肽链继续进入膜间隙，于是蛋白质成为内膜蛋白；(C)膜间隙可溶性蛋白经(A)和(B)过程后，插在内膜中的疏水序列被膜间隙中的信号肽酶切除后，变成成熟的蛋白质

在细胞质溶质中合成的线粒体蛋白并不都是通过前述途径来运送。定位于线粒体外膜的蛋白质就常无前导序列，它不以前体形式运送插入。如有一种分子质量为 7.0×10^4 的线粒体外膜蛋白，其氨基末端 41 个氨基酸残基便具有前导序列的作用，能将大肠杆菌 β - 半乳糖苷酶牵引插入线粒体外膜。还有一些跨膜运转的线粒体蛋白，合成时也不带有前导序列，如位于内膜的 ADP/ATP 载体，其氨基末端的 115 个氨基酸残基同样具有前导序列功能，而细胞色素 C，迄今一直未发现它本身哪些结构具有前导序列功能。它可能是直接扩散通过外膜而进入线粒体，再在细胞色素 C - 血红素裂合酶催化下，加上血红素后成为成熟型并定位于内膜外侧。

线粒体蛋白的跨膜运送是一个多步骤耗能过程，有多种蛋白质参与。除前导序列可驱动蛋白质前体跨越内外膜并定位于各最终场所外，分子伴侣对于蛋白质跨膜前的解析叠和跨膜后的重新折叠发挥了关链作用，从而保证了蛋白质前体能以柔韧状态穿过线粒体内、外膜，并在穿膜后获得正确折叠构象，形成成熟蛋白质。

2. 叶绿体蛋白跨膜运送的特点

与线粒体一样，大部分的叶绿体结构蛋白和功能蛋白都是在细胞质溶质中游离核糖体上合成，然后运送到叶绿体。这些蛋白质的跨膜运送也与线粒体蛋白类似。二者都是翻译后转移，跨膜转运过程都需要能量驱动，都具有两性氨基末端的前导序列，而且在蛋白质进入目的地的过程中被分次切除。

尽管叶绿体蛋白和线粒体蛋白一样具有指导蛋白质转运的前导序列，但它们各有各的膜输入受体。把从豌豆中提取的 mRNA 放入麦胚提取物的上清液中，来合成蛋白质，并与分离出的叶绿体膜一起温育，结果发现 RuBP 羧化酶小亚基前体、捕光叶绿素 a/b 结合蛋白的前体均可与叶绿体膜结合，而提取物中的其他蛋白质则不能与膜结合。由此可知叶绿体膜上有识别叶绿体蛋白前导序列的特异受体，它保证叶绿体蛋白只能进入叶绿体而不会进入其他细胞器。

叶绿体除具有双层膜的外被以外，其基质（stroma）中还有内膜包成的类囊体，因此在叶绿体前体蛋白输入到类囊体中时，要经过两个步骤并需要两个信号序列。首先，它们在外被的双膜接触点处进入到叶绿体基质，而后再穿过成摞类囊体膜进入腔(lumen)中。可见，被定位在类囊体膜或腔中的蛋白质都必定通过基质途径。这些蛋白质前体有约 50 个氨基酸残基组成的前导序列，其氨基末端的肽段是识别和跨过叶绿体被膜必不可少的，进入基质之后此肽段即被切除，于是便显露出氨基末端的第二个前导序列，引导跨越类囊体膜的第二步行动(图 14－85)。叶绿体蛋白前体穿过被膜的内、外膜进入其基质的第一步仅是依赖于 ATP 水解提供能量，而横穿类囊体膜时需要电化学度的势能予以协助。

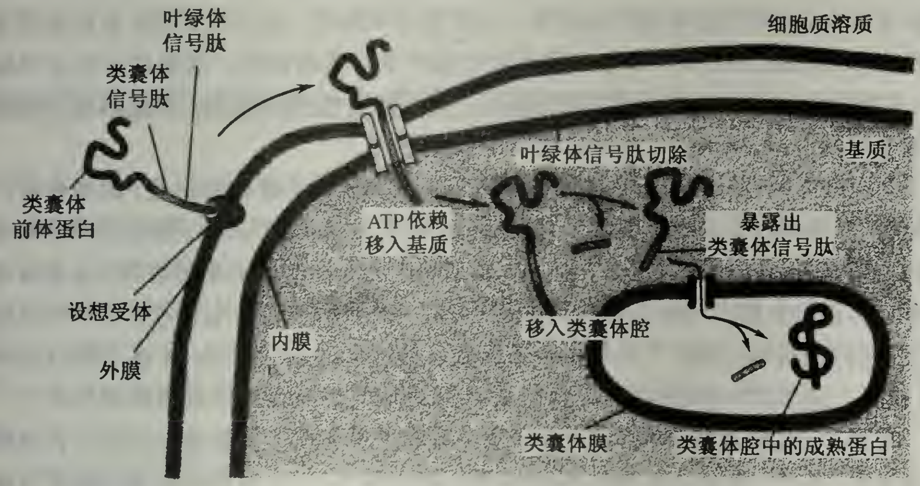


图 14－85　叶绿体蛋白前体运入类囊体腔的示意图

叶绿体前体蛋白多肽链中氨基端含有叶绿体信号肽，其后为类囊体信号肽。叶绿体信号肽引导肽链穿过内外膜接触点，进入叶绿体基质，信号肽被切除。于是，便暴露出类囊体信号肽，它再引导肽链穿过类囊体膜，进入类囊体腔

(三)过氧化物酶体中的蛋白质输入

过氧化物酶体中，无论是膜上还是腔中的蛋白质都是在细胞质溶质中合成后输入的。例如，过氧化氢酶（catalase）是过氧化物酶体中的一种主要蛋白质，是含有血红素的四聚体蛋白。它先是在细胞质溶质中合成无血红素的单体，被运入过氧化物酶体腔内之后，才在有血红素的条件下形成四聚体。许多过氧化物酶体蛋白质在近羧基端处具有一特异性的 3 个氨基酸序列（见表 14－8)，是该蛋白质的输入信号。当把这一短的信号序列连接到细胞质中的任何蛋白质上，都可使该蛋白质被输入过氧化物酶体中。

过氧化物酶体的膜外表面至少有一种蛋白质是输入信号的受体蛋白，它可识别蛋白质上输入信号，有助于该蛋白质进入过氧化物酶体。实验表明，将此序列连接到细胞质溶质蛋白上，该蛋白即可进入过氧化物酶体。人类 Zellweger 综合征（Zellweger syndrome）即是由于过氧化物酶体中缺乏输入蛋白，导致该细胞器产生缺陷。病人细胞内含有“空的”过氧化物酶体，脑、肝、肾严重异常，出生后很快死亡。对这种疾病产生原因的研究发现，编码过氧化物酶装配因子-1（peroxisome assembly factor-1）的基因突变是主要的病因之一。

六、原核生物中分泌蛋白的合成

原核生物如细菌，没有内质网，但也能合成外排到细胞外的分泌蛋白。例如，有的细菌可向环境中分泌青霉素酶（penicillinase），具有抗青霉素能力。白喉菌（C. diphtheriae）能向细胞外分泌白喉菌素。细菌外排的蛋白质在其起始的氨基末端带有疏水的信号序列，从而使新生的多肽易于穿过质膜，进入介质。原核生物外排蛋白质的合成也经历了真核细胞合成分泌蛋白的类似过程。大肠肝菌的分泌蛋白穿膜也需有信号肽的存在。Bassford 和 Beckwith（1979）的实验表明，信号肽中只要有一个氨基酸发生改变，合成的多肽就不能穿膜。正像预料的那样，信号肽中的疏水氨基酸如果被亲水性氨基酸所代替，则会对多肽的穿膜产生严重的影响。细胞的许多分泌蛋白 N-末端的前导肽序列在该蛋白质穿膜后，常被前导肽酶所切割。导肽酶是一种插在内膜中的蛋白质，能识别一些输出蛋白的前体形式。

在原核生物中，存在几种伴侣蛋白能阻止成熟前新生蛋白的折叠，以增强蛋白质的运输。这些伴侣蛋白有触发因子（trigger factor）、GroEL 和 Sec B。触发因子的特点是可作为协助蛋白质输出的伴侣。See B 的主要作用则在于发动蛋白输出，这是由于它具有两方面的性能：一是作为伴侣结合到含有信号序列的新生蛋白质上，严格抑制新合成蛋白质的错误折叠；二是与 Sec A 蛋白质具有亲和力。而 Sec A 是一种膜边周蛋白，能以不同方式与膜结合，且可识别 Sec B 和前体蛋白，从而将后者固定到膜上。

另外，还发现原核生物，如大肠杆菌中含有少量类似于真核细胞中信号识别颗粒的复合物，是由一条 4.5 S RNA 结合着两个蛋白质——Fth 和 Ftsy。4.5S RNA 与真核中 SRP 的 7S RNA 同源，能与核糖体结合；Fth、Ftsy 则分别与 SRP_{54} 及 SRP 受体中的一个亚基同源。这个复合体的作用是结合于核糖体上新生肽链的引导序列上，保护新生肽链具有适宜构象，直到行使正常功能。

原核生物分泌蛋白的合成方式有两点不同于真核细胞中的合成过程：①核糖体不直接与膜结合，而是通过新合成的分泌蛋白多肽链结合到膜上；②多肽链所结合的膜是质膜，合成的蛋白质穿过质膜分泌到细胞外（图 14-86）。

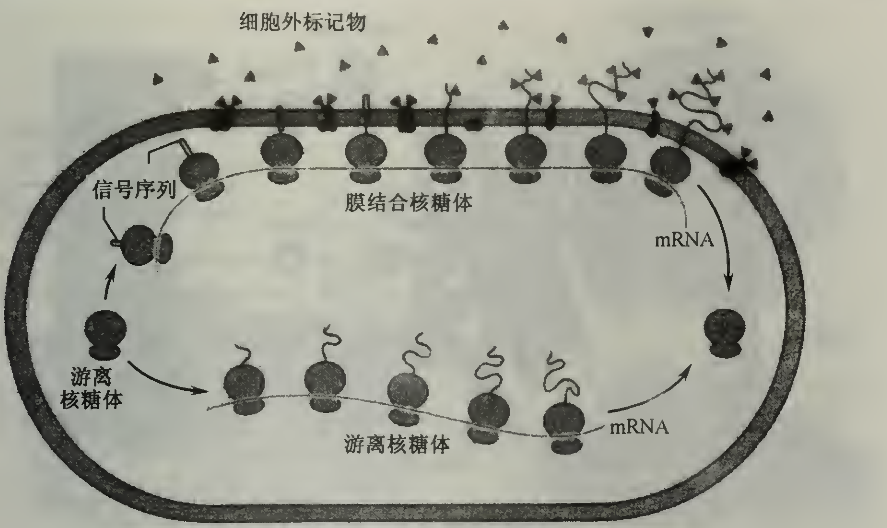


图 14-86　细菌细胞分泌蛋白的共翻译分泌机制

核糖体通过新生的分泌蛋白多肽链结合到质膜上，蛋白质边合成，边分泌。非分泌蛋白质则是在游离核糖体上合成(自 B. D. Dvis and P. C. Tai　1980)

七、糙面内质网核糖体上合成蛋白质的外运

糙面内质网上合成的蛋白质是以膜泡运输的方式外运。其中膜结合蛋白与 ER 膜结合，随膜流运至其他膜围细胞器或质膜；而可溶性蛋白则包装在膜泡中外运。因此，膜泡运输是细胞内物质运输的主要途径之一。

在本书第四章中谈到膜泡运输时，曾介绍过成笼蛋白包被小泡 (clathrin-coated vesicles)(简称为 CL 泡)运输。由成笼蛋白包被小泡运载的物质有一定的选择性，需要有专一受体和衔接蛋白(adaptin)的参与，故此类运输称为选择性小泡运输。

(一)非选择性膜泡运输

还有一类膜泡运输，所运载的物质没有选择性，故不需要专一受体的介导，此类运输称为非选择性运输。例如，ER→高尔基体；高尔基体潴泡间小泡转运；*trans* 高尔基网→质膜的运输。此类运输所形成的小泡也需要形成包被，不过包被的成分不是成笼蛋白，而是另外一种称为 COP 的蛋白质。7 个 COP 蛋白亚基组成一个大的蛋白质复合物，此复合物称为衣被单元(coatomers)，许多衣被单元包围小泡，形成衣被单元包被小泡(coatomer-coated vesicles)(简称为 CO 泡)(图 14-87)(表 14-11)。

在 RER 膜上合成的蛋白质要经非选择性运输的方式运至高尔基体。因此，衣被单元包被小泡(CO 泡)对内质网膜上合成蛋白质的运送起着重要的作用。此部分主要介绍 CO 泡的物质运输。

1. 衣被的装配

衣被单元包被的装配与解装配依赖于一种称为 ARF 的蛋白质，ARF 在成笼蛋白

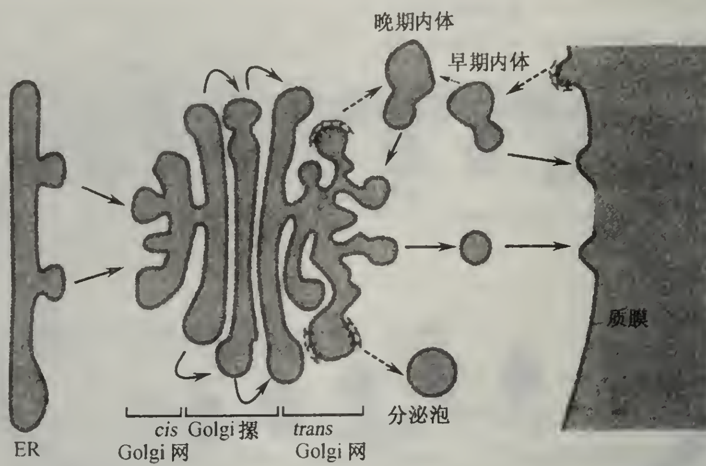


图 14－87　细胞器间选择性与非选择性膜泡运输途径示意图

虚线箭头示信号介导的选择运输途径，由成笼蛋白包被小泡载运；实线箭头示非选择性的恒定运输途径，由衣被单元包被小泡载运

表 14－11　有被小泡的几种类型

小泡类型	包被性质	衣被蛋白	供体膜	归宿
CL 泡	成笼蛋白＋衔接蛋白 1	成笼蛋白	高尔基体	经内体至溶酶体
CL 泡	成笼蛋白＋衔接蛋白 2	成笼蛋白	质膜	内体
CO 泡	COP 包被	COP 蛋白	ER	*cis* 高尔基潴泡
			ER 高尔基潴泡	高尔基潴泡
			高尔基体	ER
			trans 高尔基网	质膜

衣被形成时也起作用。ARF 是一种调节性的 GTP 结合蛋白，是带有脂肪酸尾的 GTP 酶。它可以有两种状态：一种是在细胞质溶质中 GDP 结合态，处于失活状态；另一种是 GTP 结合态，处于活性状态。GTP 结合蛋白状态的改变依赖于两种辅助成分：①鸟嘌呤核苷酸释放蛋白（guanine-nucleotide releasing protein, GNRP），GNRP 可催化 GDP 置换成 GTP；② GTP 酶激活蛋白（GTPase activating protein, GAP）GAP 可催化结合的 GTP 水解。许多调节性 GTP 结合蛋白共价结合的脂肪酸尾可插入膜脂双层中。

将要形成 CO 泡的供体膜区含有专一性的鸟嘌呤核苷酸释放蛋白（GNRP），GNRP 可使 ARF 释放 GDP，而结合上 GTP，因为细胞质溶质中 GTP 的浓度要高于 GDP。结合上 GTP 的 ARF 被激活，ARF 构象改变，暴露出脂肪酸尾，脂尾插入了供体膜脂双层。与膜结合的 ARF-GTP 结合物收集衣被单元亚基，引起膜出芽。随芽生长，继续不断包被上衣被单元亚基，芽被掐下后，形成 CO 泡（图 14－88）。

当 CO 泡停靠到靶膜上后，靶膜上的专一性 GTP 酶激活蛋白（GAP）激发 ARF 将其自身结合的 GTP 水解成了 GDP。这一变化引起 ARF 发生构象变化，其脂肪酸尾便从靶膜中抽出，衣被体衣被随之解体。于是小泡便可与靶膜继续发生融合。

2. 对靶膜的识别与停靠

无论是选择性运输还是非选择性运输，膜泡要把运载物运抵“目的地”，则首先要高度选择性地抵达靶膜，然后与靶膜融合，从而将运载物释放到膜围区间。因此，在此

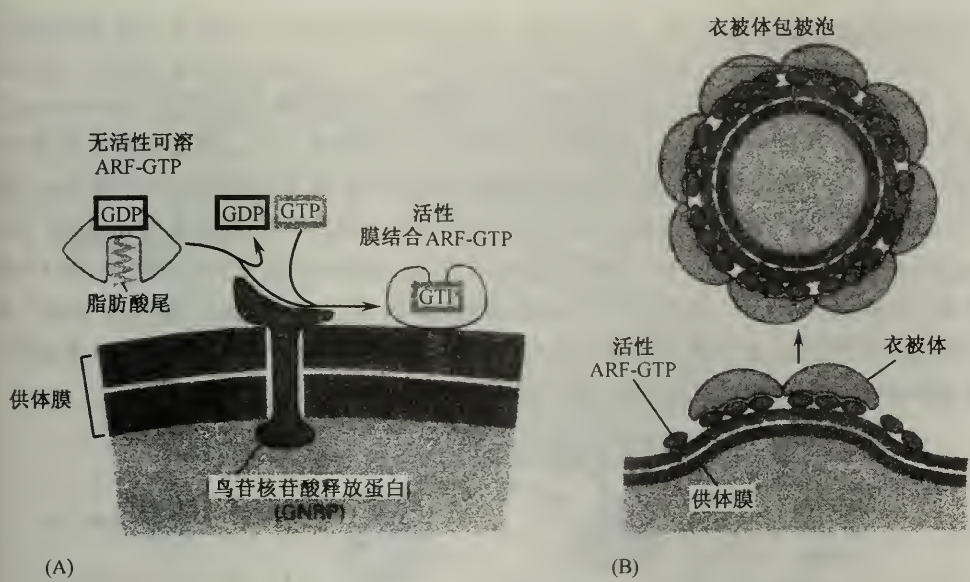


图 14－88　衣被单元包被小泡形成机制图解(自 Alberts et al.　1994)

(A) 无活性的可溶性 ARF－GDP 结合到供体膜上的鸟嘌呤核苷酸释放蛋白，引起 ARF 释放出 GDP，而结合上 GTP。ARF 发生 GTP 激发的构象变化，暴露出脂肪酸链，脂肪酸链插入到供体膜中；(B)膜结合的活性 ARF－GTP 把衣被体亚基收集到膜上，引起膜形成一个芽体，掐下后形成衣被体包被小泡

过程中就要涉及到泡膜与靶膜相互识别的机制。目前，对这方面机制的了解尚不多。

研究表明，在衣被单元包被小泡运输中，这种识别作用与一种称为 Rab 蛋白的单体 GTP 酶家族成员有关。Rab 蛋白可有针对性地引导膜泡同靶膜相互作用。脊椎动物中有许多种 Rab 蛋白，每一种与分泌和内吞有关的膜围细胞器都带有特定的 Rab 蛋白。Rab 蛋白水解与之结合的 GTP，从而将 CO 泡锁定在靶膜上。

另外，在供体膜（小泡膜）上有 v-SNAREs 蛋白，它是 SNAP 蛋白的受体，故称为 SNAREs；靶膜上带有 t-SNARE 蛋白，v-SNAREs 可被 t-SNARE 专一识别。当小泡与靶膜相遇时，二者互补结合（图 14－89）。可能对不同的细胞器来说，v-SNARE-t-SNARE 有不同的专一互补结合对，从而可引导小泡停靠到恰当的靶膜上。(v，小泡；t，靶膜)

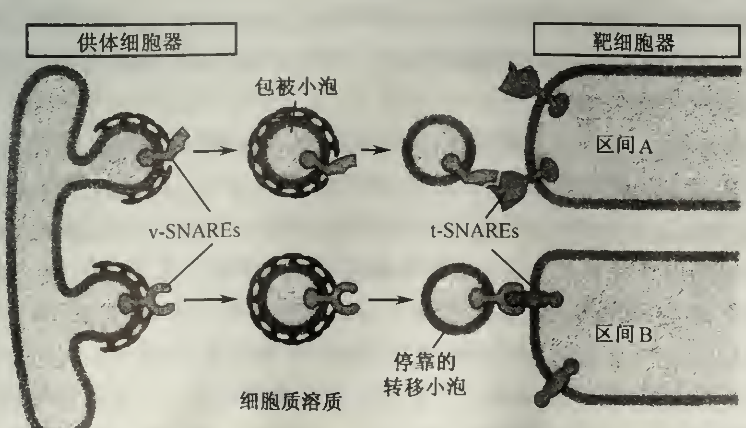


图 14－89　v-SNARE 与 t-SNARE 互补结合的示意图

3. CO 泡与靶膜的融合

膜泡停靠到靶膜上后，二者的接触尚不够紧密，只有再进一步拉近（ <1.5nm），才能发生融合。要把两种膜进一步拉近，还要有若干种物质协助。例如，需要有 ATP、GTP、乙酰 CoA 和几种蛋白质。其中已查清的有两种主要的蛋白质，分别称为：NSF（N-ethylmaleimidesensitive fusion protein）和 SNAPs（可溶性 NSF 接合蛋白，soluble NSF attachment proteins）。NSF 是一种可溶性的 ATP 酶。SNARE 是 SNAP 的受体，SNAP 既可同 v-SNARE 结合，也可同 t-SNARE 结合。因而，融合蛋白 NSF 和 SNAP 同 v-SNARE-t-SNARE 结合成了膜融合蛋白 NSF-SNAP、SNARE（SNAP-receptors）复合物，将两种膜的距离拉近，促使运输泡膜与靶膜融合（图 14－90）。

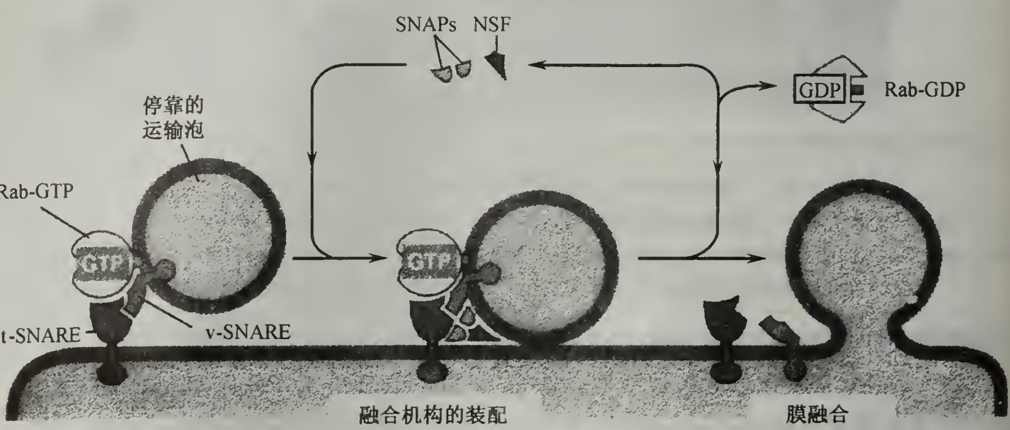


图 14－90　NSF 和 SNAPs 促使运输泡膜与靶膜融合图解

CO 泡与靶膜的相互融合，使运载物得以被释放到特定的膜围区间。在融合过程中，ATP 被水解，NSF-SNAP 复合物发生解离。NSF 和 SNAP 重返细胞质溶质，参加另一轮的膜融合。

（二）细胞骨架和摩托蛋白在膜泡运输中的作用

各种膜泡由发生地抵达靶膜的距离有所不同，运输的途径也有所差别。

（1）近距离运输：供体膜距靶膜较近者，依靠小泡的自由扩散即可抵达受体细胞器。例如，由 ER→高尔基体。

（2）远距离运输：小泡依靠摩托蛋白，利用水解 ATP 提供的能量，沿微管或微丝移动。现已发现的摩托蛋白有 10 几种之多，其中对驱动蛋白（kinesin）、细胞质动力蛋白（cytoplasmic dynein）（与纤毛动力蛋白类似）和肌球蛋白（myosin）研究的较为详细。前两种蛋白质沿微管驱动运载物运输，而肌球蛋白则是驱动沿肌动蛋白丝（微丝）的移动。沿细胞骨架进行物质运输，要比膜泡自由扩散快速有效得多。例如，神经轴突中的膜泡物质运输即是依靠驱动蛋白和动力蛋白这两种摩托蛋白进行的。据测定，某些动物轴突中膜泡的运行速率为 10cm/d，膜泡以这种速率运输，从细胞本体抵达末梢约需一周；但如果是自由扩散，则需要几年。

驱动蛋白、动力蛋白和肌球蛋白在分子结构上基本类似，都是由两条重链结合几

条轻链构成。重链在一端分别盘绕成球形，是为头部，其余部分则相互缠绕成长的尾部。头部具有 ATP 酶活性，可与微管相互作用，沿微管“行走”，运送物质。驱动蛋白与动力蛋白沿微管移动的方向相反，驱动蛋白是向着微管的正端(+)移动，而动力蛋白是向负端(-)移动(图 14-91)。这已用聚苯乙烯微粒实验所证实，将涂有驱动蛋白的微球注入细胞中，微粒只沿微管向正端移动；如果微粒涂有动力蛋白，则向微管负端移动。

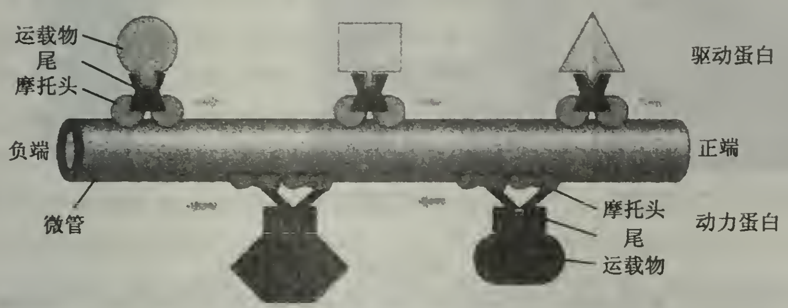


图 14-91 摩托蛋白沿微管定向运送运载物示意图
(自 Alberts et al. 1998)驱动蛋白向正端(+)移动；而动力蛋白向负端(-)移动

八、蛋白酶体在蛋白质降解中的作用机制

在真核生物中，一个细胞内各种蛋白质的数量，不仅取决于新生肽链的合成速率，也取决于它们存活的寿命。所以在一定时期内，细胞把一些蛋白质降解成氨基酸，也是调节其特定蛋白质数量的一条途径。各种蛋白质的寿命极不相同，如骨骼和肌肉这样一些永久性组织的结构蛋白，其寿命可长达几个月甚至几年；而另外一些蛋白质如代谢酶、调节细胞生长周期以及细胞分裂的一些蛋白质，它们的寿命却只有几天，几小时，甚至只有几秒钟。那么，细胞究竟是怎样来控制这些蛋白质的寿命呢?

细胞具有蛋白酶解(proteolysis)这样一种专门的途径，把蛋白质降解成氨基酸。蛋白酶通过水解氨基酸之间的肽键而发挥作用。蛋白酶解途径的一个功能是快速降解寿命短暂的蛋白质，另一个功能则是识别或清除已被破坏、老化或错误折叠的蛋白质。

尽管在真核细胞中，大量的蛋白质降解作用是在溶酶体这样一些细胞器内进行，但在细胞质溶质中，大多数蛋白质的降解是由一种大的蛋白酶复合体来完成的，这种蛋白酶复合体称作蛋白酶体(proteasomes)。在细胞内有许多蛋白酶体，一个蛋白酶体是由一些不同的蛋白酶组成的筒状体，各蛋白酶的作用位点面向筒内腔。筒状体两端各有一个大的蛋白质复合物塞着，封闭塞是由 10 种以上的多肽亚基组成，其中有些具有 ATP 酶活性(图 14-92)。这些蛋白质封闭装置可有选择地结合那些须破坏的蛋白质，将它们送进筒状体内腔，由蛋白酶降解成短肽，然后释放。蛋白酶体这种装置的重要意义在于，它可使蛋白酶有选择地水解蛋白质。

将被清除的蛋白质上挂有“清除标签”，这种标签即是蛋白质共价结合的一个或几个泛素(ubiquitin)分子。泛素是由 76 个氨基酸组成的小蛋白质，在细胞质中游离存在或与蛋白质共价结合。与蛋白质共价结合的泛素是由专一性的酶催化加接上的，此酶称为泛素结合酶(ubiquitin-conjugating enzymes)或泛素化酶。不同的泛素结合酶参与不同的泛素依赖酶解途径。结合酶带有识别亚基，可针对带有特定降解信号的蛋白

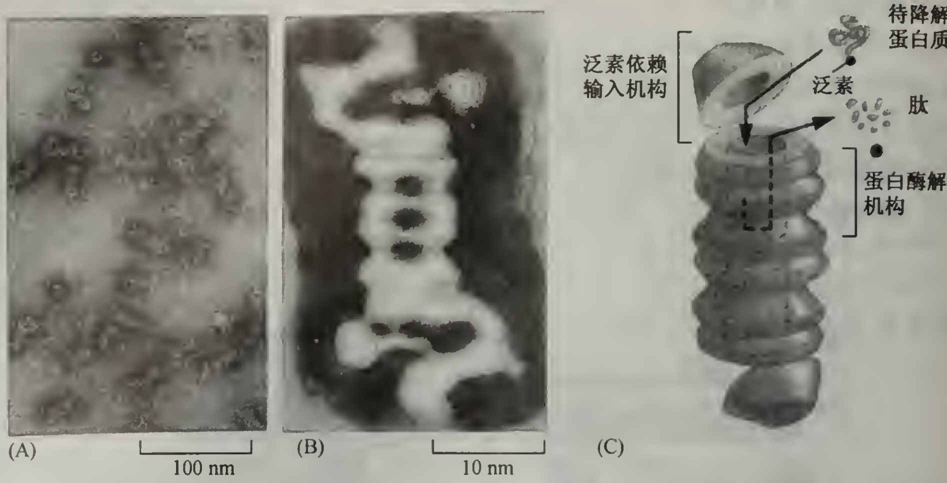


图 14-92　真核细胞中的蛋白酶体

(A)电解后观察到的大量蛋白酶体；(B)根据电镜下观察到蛋白酶体，经计算机处理后的一个蛋白酶体图像；(C)蛋白酶体复合物的图解

质发挥作用。它将泛素加接到靶蛋白的赖氨酸残基上，然后再逐个将泛素加接到前一个泛素的第 46 位赖氨酸上，从而形成一条多泛素链（参见图 6-6）。大多数泛素化的蛋白质将注定被降解（但组蛋白例外，意义尚不明）。泛素化的蛋白质可被封闭塞中的一种蛋白质所识别，从而与蛋白酶体结合而被水解。

短寿命的蛋白质具有一段短的氨基酸序列，此序列确定蛋白质要发生泛素化，最终被蛋白酶体所降解。那些变性的或错折叠的蛋白质，以及含有氧化氨基酸或其他异常氨基酸的蛋白质，都可被依赖泛素的蛋白质酶解系统所识别和降解。泛素结合酶能识别暴露在这些蛋白质外表的降解信号，这种信号正是由于蛋白质错折叠或化学损伤所造成，例如，原本在正常情况下包藏在蛋白质内部接触不到的氨基酸序列或构象结构域，由于种种原因被暴露到蛋白质外，就成了它们自身的降解信号。

蛋白酶体不仅可降解自身的异常蛋白质，而且也可降解外源性蛋白质，从而在细胞免疫过程中发挥作用。例如，细胞受到病毒感染后，病毒蛋白质进入细胞内。这些病毒蛋白也可被蛋白酶体降解成短肽，短肽进入内质网腔，同 ER 膜上的 I 类 MHC（major histocompatibility complex，主组织相容性复合物）结合（MHC 包括 Ⅰ和 Ⅱ两类，它们都可结合抗原，将其递呈给 T 细胞），此结合物经高尔基体抵达质膜表面。这种结合短肽的Ⅰ类 MHC 可被细胞毒 T 细胞所识别，激起 T 细胞分泌 γ 干扰素（γ interferon），杀死被病毒感染的细胞。

提　要

DNA 是各类细胞中含有的遗传物质，它具有贮存和传递遗传信息的功能，遗传信息是以核苷酸编码序列的形式存在于 DNA 分子中。

原核细胞中的基因组很小，其 DNA 常是一条相对分子质量较小的共价闭合的双链分子，其 DNA 分子的绝大部分都用于编码蛋白质，只有一小部分不转录。真核细胞中的 DNA 分子量远大于原核细胞中的 DNA，其 DNA 的最大特点是含有大量的重复

DNA 序列。

自我复制是 DNA 分子最重要的属性，也是生物体进行繁殖的遗传基础。关于 DNA 复制的机制首先是在大肠杆菌中查清的。DNA 复制是按半保留方式进行的，DNA 双螺旋先解旋，DNA 双股链解开，于是以每股链为模板，按碱基配对原则，各合成了 1 条互补的新链，新链同旧链结合组成了两个新的 DNA 分子。新链的合成是在 DNA 聚合酶的催化下，由核苷酸单体按 5′→3′的方向聚合而成。

以大肠杆菌为代表的原核生物的 DNA 复制是由若干酶和蛋白质协调作用的复制过程。大肠杆菌有 3 种 DNA 聚合酶，即 Ⅰ、Ⅱ和 Ⅲ，其中酶 Ⅲ 是主要的聚合酶，聚合酶 Ⅰ 在填补空缺和修复错误方面发挥作用。复制时，首先由 DNA 解螺旋酶催化在复制叉处打开 DNA 双链间的氢链，使双股链分离。随着 DNA 双螺旋的不断解链，拓扑异构酶也同时使 DNA 双螺旋和超螺旋发生解旋变化，分离开的链由单链结合蛋白结合而取直，以便于复制时碱基配对。DNA 的两股模板链为反向平行，以其中 1 股为模板，按 5′→3′方向可连续合成新链，这是先导链。而以另一股为模板合成新链时，则需先以合成冈崎片段的形式，经连接酶的作用，连接成一段成熟的互补链，是为后随链。因此，DNA 的复制是半不连续性的。DNA 复制时，所有的 DNA 聚合酶都必须以带游离 3′羟基的多核苷酸为引物，才能催化单核苷酸加到 3′羟基上。冈崎片段合成时，也需要先合成一小段引物。引物是以 DNA 链为模板，在引发酶的催化下合成的。RNA 引物以后被聚合酶 Ⅰ切除，并在此酶的催化下合成一股脱氧核糖核苷酸链填补起来，再经 DNA 连接酶催化衔接。DNA 复制过程中，许多复制蛋白是装配成一定结构来行使功能的，因而提出了复制体的概念，即是由复制体负责前导链和后随链的协同复制，而迴环模型的设想就是用于说明复制体的作用机制。

真核生物的 DNA 复制也是按半保留方式进行的，不过真核基因组中有若干个复制单位，每一个单位称为复制子，每一个复制子具有 1 个复制起点。这些复制子可同时进行双向复制，加快了复制速度。真核生物有 5 种 DNA 聚合酶，其中 α、β、δ 和 ε 位于细胞核中，γ 则存在于线粒体中。DNA 聚合酶 α 是主要的复制酶，由 4 个亚基组成。真核生物的染色质具有核小体结构，DNA 复制时，复制区的 DNA 链暂时与组蛋白分开，复制后的子链再重新构成核小体。真核 DNA 的复制装置与核基质紧密结合，而且 DNA 复制起始点是结合在核基质上。端粒是真核细胞内染色体末端的 DNA 重复序列，其 DNA 复制行为不同于常规的 DNA 复制，是由端粒酶来进行的。端粒酶是一种核糖核酸和蛋白质的复合物，其中的蛋白质组分具有转录酶活性，能以端粒酶中的 RNA 序列为模板合成端粒 DNA。端粒长度的变化与端粒酶的活性密切相关，而细胞的寿命又与端粒的长度有关。

无论是原核生物还是真核生物中，DNA 复制均存在着滑动夹环机制。滑动夹环可沿 DNA 双螺旋滑动，其功能是有助于增强聚合酶复制 DNA 的持续性和复制速率。原核生物中为 β 蛋白二聚体夹环；真核生物中为 PCNA 三聚体夹环。

DNA 复制除叉式复制外，还存在另外的两种复制方式，即滚环复制和 D 环式复制。滚环复制是一种快速复制方式。

真核生物中，某些细胞在特定时期，其基因组内只有一定的 DNA 序列反复进行复制，而其他部分不复制，这种专一序列单独复制的现象称为基因扩增。昆虫的多线染色体、两栖类卵母细胞以及哺乳类的肿瘤细胞中都发现有基因扩增现象。

DNA 分子贮存的遗传信息转变为特定产物的过程称为基因表达。DNA 的信息通过转录传递给 RNA,再经过翻译传递给蛋白质。

转录是以 DNA 的一股链为模板合成 RNA。RNA 共分 3 类，即 mRNA、tRNA 和 rRNA。RNA 的合成需要有 RNA 聚合酶的催化。原核生物中只有 1 种 RNA 聚合酶,这种聚合酶的全酶由 5 个亚基组成,即两条 α 链、1 条 β、1 条 β′链和 1 条 σ 链。σ 链分别在转录的起始和终止时发生作用。σ 亚基和酶中的其他部分结合疏松，可以分离出来。没有 σ 亚基的 $\alpha_2\beta\beta'$,称为 RNA 聚合酶的核心酶。真核生物中有 3 种 RNA 聚合酶，即聚合酶Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ。聚合酶Ⅱ和Ⅲ均位于核液中，前者催化 mRNA 的合成，后者催化 tRNA 和 5S rRNA 的合成；聚合酶Ⅰ存在于核仁中，负责催化 rRNA 的合成。真核生物 RNA 聚合酶Ⅱ中的最大亚基的羟基末端含多个 7 肽重复序列，即 Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser。7 肽重复序列的重复次数对细胞活性至关重要，不同生物中这种 7 肽序列的重复次数不同。这种重复序列的磷酸化和去磷酸化与基因转录活动密切相关。

启动子是 RNA 聚合酶的结合部位,启动子中的 TATA 框是聚合酶的结合位点。原核生物的 mRNA 转录时,RNA 聚合酶全酶中的 σ 亚基对基因的启动区有识别能力,专一结合,发生转录。转录开始后,σ 亚基从全酶解离;核心酶负责 RNA 链的延伸。被转录的 DNA 模板上有提供转录终止信号的区域,其特征是具有迴文序列,可使转录物形成发卡结构。这种提供终止信号的序列就称为终止子,按其在转录终止中的作用强弱,可分成依赖于 ρ 因子的弱终止子和不依赖于 ρ 因子的强终止子。原核生物的 mRNA 转录物不需修饰即可用于翻译。

真核生物 mRNA 的合成较为复杂。最初的转录产物为前体 mRNA,要经过转录后的加工修饰才能成为成熟的 mRNA。这些加工过程包括:① 5′端戴帽,② 3′末端加尾;③内含子以及一些非编码的插入序列的切除;④链内某些核苷酸的甲基化。

原核细胞中的 16S、23S 和 5S rRNA 的 3 种基因是混杂排列在一个操纵子中，其间还插入有 tRNA 基因,因此最初的转录物为前体 rRNA,经切割而成各种 rRNA。真核生物有 18S、5. 8S、28S 和 5S 4 种 rRNA。前三者的编码基因存在于核仁组织区,先转录成前体 rRNA,切割后分成各种 rRNA。5S RNA 基因则单独存在,单独转录。近年发现有些生物的前体 rRNA 中有内含子，要经剪接加工去除。如四膜虫大核 26S RNA 前体,通过磷酸转酯反应的自我催化,去除内含子后才成为成熟的 26S rRNA。这种剪接形式称为自我剪接。在自我剪接过程中,RNA 既是底物又是催化剂,具有催化作用的 RNA 被称为 RNA 催化剂(也有称作核酶的)。成熟的各种 rRNA 结合上一定数量的蛋白质,形成了核糖体的大、小亚基。

tRNA 基因转录的最初产物为前体 tRNA,经加工后成为成熟 tRNA。这一过程包括:切除 5′末端的先导序列和内部的插入序列；在 3′末端加上 5′-CCA-OH；对内部某些核苷酸进行修饰。原核生物中每种 tRNA 有几个拷贝,真核生物中的则有几百个拷贝。

mRNA 所携带的遗传信息在 tRNA 和核糖体的配合下，翻译成蛋白质。核糖体是 mRNA 上密码翻译的场所,tRNA 则是氨基酸的运载体。新生肽链的合成还必须有蛋白质因子的参加,如起始因子、延伸因子和释放因子等。翻译起始时,在原核生物中,是由核糖体 30S 小亚基通过其 16S rRNA3′端的富含嘧啶区的序列与 mRNA 的 SD 序列互补来识别和选择 mRNA，起始氨酰基 tRNA 在几种起始因子的协助下首先形成起始复

合物。起始氨酰基 tRNA 在真核生物中是携带甲硫氨酸，在原核生物中携带的是甲酰甲硫氨酸。起始的氨酰基 tRNA 可识别起始密码 AUG。随后，核糖体大亚基同起始复合物结合。起始氨酰基 tRNA 只同核糖体 P 位结合，第二个氨基酸则被带入 A 位。在肽基转移酶的催化下，P 位上的甲硫氨酸或甲酰甲硫氨酸同 A 位上的氨酰基 tRNA 形成二肽基 tRNA，游离的 tRNA 从 P 位上释放。在移位酶的作用下，二肽基由 A 位移至 P 位，空出 A 位来接收另一个氨酰基 tRNA，与此同时核糖体按 5′→3′方向沿 mRNA 移动到下一个三联密码。此过程反复进行，肽链逐渐延长。当核糖体移到 mRNA 的终止密码子时，在释放因子作用下，停止翻译，多肽链释放。真核生物蛋白质合成的起始机制与原核生物基本相同，只是 mRNA5′端具有甲基化的“帽子”、起始因子较多以及形成起始复合物的步骤更多一些；另外在翻译起始时，Met-$tRNA^{Met}$ 是先和 40S 小亚基形成复合物，然后再结合到 mRNA 上，并沿 5′→3′方向滑动，搜寻合适的起始密码，再结合上 60S 大亚基，完成核糖体结构，起始翻译。“扫描模型”就是用来说明真核生物蛋白质合成的上述起始机制。

蛋白质合成过程因细胞代谢、生理活动和细胞分化的需要受到调节。蛋白质合成的调节可发生在 DNA 复制、DNA 转录、转录后和翻译等不同水平上。转录水平上的调节首先是在原核生物中发现，在细菌中存在有操纵子调控机制。操纵子是由结构基因和相邻的一组调节基因组成的协调单位。启动区是 RNA 聚合酶的结合部位。操纵基因介于启动区和结构基因之间，它是阻遏物的结合部位，一旦结合上阻遏物便可阻塞 RNA 聚合酶由启动区移向结构基因。阻遏物的编码基因位于操纵子之外，每一操纵子均各有其专一的阻遏物基因。某些代谢物可阻止阻遏物同操纵基因结合，促进相应的 mRNA 的合成，另一些代谢物可促进阻遏物同操纵子结合，从而关闭该操纵子的活动。在正控制机制中，有的调节物可有效地促进 RNA 聚合酶同启动子区结合，例如 cAMP 和其受体蛋白（CAP）结合的复合物即可起此作用。cAMP 在细胞内的浓度受一定的代谢物的影响。

真核基因表达调控较为复杂。基因表达严格遵循一定的时空顺序，调控的范围也较广泛。由于真核细胞的基因组 DNA 与蛋白质的结合，组成以核小体为基本结构单位的染色质，因而基因的转录首先涉及到染色质结构的变化，并受组蛋白和非组蛋白的调控。在转录水平的调节中，转录起始的调控最为重要，既受基因本身所在 DNA 上启动子、增强子等顺式元件的调节，又需一些专一 DNA 序列结合蛋白的参与。这些专一 DNA 序列结合蛋白有的是通用转录因子，有的是一些基因调节激活蛋白。转录起始时，必须要有通用转录因子的协助，RNA 聚合酶才能结合到启动子上的相应功能域，形成起始复合物，开始转录活动。而增强元件在基因调节蛋白的帮助下则可大大增加基因转录效率。不论通用的转录因子，还是其他的基因调节蛋白，它们在与识别区 DNA 的相互作用时，常是插入到 DNA 双螺旋的大沟中，与碱基对形成一系列的接触点，从而保证那些结合蛋白与特定 DNA 序列间相互作用的高度专一和强度。目前对一些专一 DNA 序列结合蛋白的鉴定，表明它们都具有 3 个主要的功能结构区：DNA 结合结构区、转录激活结构区和结合其他因子的结构区。它们各有不同的结构特征，行使不同的功能。其中研究得较为清楚的 DNA 结合结构域模式有 4 种：α 螺旋 – 转角 – α 螺旋结构域、锌指结构域、亮氨酸拉链结构域和螺旋 – 环 – 螺旋结构域。高等真核生物的基因转录还常受内、外激素的调控，如甾类激素、多肽激素。它们是通过与细胞的激

素受体蛋白结合来调控转录的。真核基因转录后的调节也是多方面的,如转录物的各种剪接加工和修饰。近年来还发现在 mRNA 中的一种新的、独特的遗传信息加工方式,即 RNA 编辑,其加工过程主要是对成熟 mRNA 进行碱基的插入、删除或替换,从而改变了初始转录产物的编码特性。真核生物中也存在明显的翻译水平上的调控,其中重要的几个环节是 mRNA 自身的稳定性,蛋白质合成起始的速率调节以及 mRNA 的结构。有关 mRNA 非翻译区的结构对翻译调控的意义已引起人们的注意。

蛋白质的合成有的是在游离核糖体上进行,有的是在内质网上结合的核糖体上进行。膜结合核糖体上合成的蛋白质是分泌性的和膜中的整合蛋白,而游离核糖体上合成的蛋白质则分别进入细胞核、线粒体、叶绿体或过氧化物酶体,或贮留于细胞质溶质。蛋白质在细胞内区间的运送途径大致分为孔门运输、跨膜运输和膜泡运输。所运输的蛋白质一般都具有分拣信号,称作信号肽序列或引导序列。不同类型的引导序列可指导蛋白质在细胞内达到不同的目的地。细胞中蛋白质的定位和跨膜运输需要分子伴侣的协助。分子伴侣在蛋白质折叠和组装过程中,能够防止肽链内和肽链间的错误折叠或聚集作用,还可以破坏肽链中已形成的错误结构,但分子伴侣本身并不成为最终产物的一部分。新合成的、带有核定位信号的核蛋白在向细胞核运输的过程中需要与存在于细胞质内的输入受体结合,然后通过与核孔复合物上伸入胞质的核孔纤维的相互作用,使核蛋白到达核孔,借助 GTP 水解所释放的能量,穿过核孔进入细胞核,而后进入的核定位蛋白与输入受体分开,后者又通过核孔返回细胞质。在游离核糖体上合成的线粒体蛋白和叶绿体蛋白不仅要进入各细胞器,而且还要到达一定的空间结构部位。其前体蛋白也具有引导序列,它们先和细胞器表面的受体结合,然后穿过细胞膜,进入细胞器,再进一步分拣定位。过氧化物酶体蛋白质的输入信号很短,是由羟基端的 3 个特异性氨基酸组成,能识别过氧化物酶体外膜表面的受体蛋白,从而进入该酶体。内质网核糖体合成的蛋白质有的通过细胞的分泌途径最终定位到细胞内的特定部位或分泌到细胞外。有的成为跨膜蛋白插入膜中。这类蛋白质的合成机制可用信号肽学说加以解释。为这类蛋白质编码的 mRNA,在 N－末端有一段为 10～30 个疏水氨基酸编码的序列,其翻译产物即称为信号肽。当游离核糖体翻译时,一出现信号肽序列,即可被信号识别颗粒所识别。糙面内质网上有信号识别颗粒的受体,能识别信号识别颗粒,并与之结合,从而使核糖体结合到内质网膜上,并引导后面翻译出的多肽链进入内质网腔。90 年代初已查明,在糙面内质网上还存在允许多肽链穿过的蛋白质通道,并已分离出多种参与构建此通道的蛋白质。一旦带有正在翻译肽链的核糖体结合到内质网膜时,膜上的蛋白质通道开放,信号肽引导新合成的多肽链穿过这一通道,进入内质网腔。信号肽进入内质网腔后随即被信号肽酶切除。进入到内质网腔的蛋白质,有的成为分泌蛋白输往高尔基器。有的肽链在内部有一疏水片段,是停止转移信号,这一片段可插在磷脂双层中,从而使多肽链插在膜中。有的多肽链中有多个内部信号肽和停止转移信号片段,这类多肽可在膜内多次折曲,嵌合于膜中。

原核生物分泌蛋白的合成也具有类似特点,也是在信号肽引导下穿过质膜排往细胞外,但核糖体不是直接同质膜结合,而是由多肽链结合到质膜上。

在真核生物中,膜泡运输是胞内物质运输的主要途径。一方面,在内质网上合成的蛋白质很大一部分要经过膜包运输运抵其他细胞器;另一方面,细胞内吞的物质也要以膜泡的形式运送到特定部位。膜泡运输分为选择运输和非选择运输两类。膜泡的形

成和运输与一称为衣被体的大蛋白质复合物有关。衣被体是由 7 种蛋白质亚基组成。在运输中,膜泡选择性地抵达靶膜,并在其他一些蛋白质的参与下同靶膜融合,从而将运载物释放到膜围区间。在膜泡运输中,细胞骨架和摩托蛋白具有重要的作用。另外摩托蛋白和微管的相互作用还影响着某些细胞器的空间定位分布。

细胞具有酶解蛋白质的专门途径, 在一定的时间细胞把有些蛋白质降解成氨基酸,这是细胞调节蛋白质数量的有效方式。在真核生物中,大量蛋白质的降解是在溶酶体中进行的。但有些蛋白质的降解是在细胞质溶质中进行的,其中大多数是由蛋白酶体来完成。蛋白酶体是由一些不同的蛋白酶组成的复合体。要被清除的蛋白质上共价结合有一个或几个泛素分子, 作为"清除标签"。蛋白酶体不仅可降解自身的蛋白质,而且也可降解外源性的蛋白质,因而能在细胞免疫中发挥重要作用。

复习思考题

1. DNA 复制有哪些基本要点?
2. 什么叫引发体?它在复制中有何作用?
3. 端粒复制的特点如何?
4. 基因扩增有何生物学意义?
5. 原核生物与真核生物的转录过程有何主要差别?
6. 真核生物的 3 种 RNA 聚合酶的分布部位与功能各有何不同?如何鉴别?
7. 真核生物前体 mRNA 与成熟 mRNA 在分子结构上有何差别?其转录后的加工修饰如何?
8. 前体 rRAN 和前体 tRNA 转变为有功能的成熟 RNA 都经过哪些加工过程?
9. 什么叫剪接体?它的作用如何?
10. 肽链合成中有哪几类可溶性蛋白质因子参与?它们的作用各如何?
11. 原核生物的操纵子学说有何要点?
12. 染色质结构与基因表达调控有什么关系?
13. 什么叫顺式调控元件和反式作用因子,它们各自的作用如何?
14. 已知的转录调控因子的 DNA 结合结构域有哪几种,它们的特点何在?
15. mRNA 编辑的意义何在?
16. RNA5′-和-3′非翻译区在基因表达调控中有何意义,为什么?
17. 信号学说怎样解释蛋白质的定位合成与分拣?
18. 蛋白质合成后的去向如何?
19. 蛋白质合成后通过哪些途径运送到其终极目的地?
20. 什么叫分子伴侣?举例说明它们在蛋白质定位和跨膜运送中的作用机制。
21. 线粒体蛋白的跨膜运输有哪些特点?
22. 内质网途径的蛋白质合成有哪些特点?这些蛋白质的归宿如何?
23. 膜整合蛋白是怎样定位的?
24. 什么叫蛋白酶体,有何生物学功能?其作用机制如何?
25. 蛋白质合成后如何加工修饰?
26. 蛋白质的剪接有何生物学意义?

主要参考文献

陈小明,杨胜利,1999. 分子伴侣与蛋白质折叠. 生物工程进展. 13(1):30~35
冯佑民,张有尚,1992. 蛋白质折叠,基因分子生物学研究进展. 上海:上海科学技术出版社,125~133

高东主编,1996. 微生物遗传学. 济南:山东大学出版社
胡二丁,杨　静,1988. 信号肽与初生蛋白质的跨膜运送过程. 生物化学与生物物理进展,15(3):162～169
胡美浩,1994. 真核生物中基因的转录调控. 生物化学与生物物理进展,21(2):117～122
黄胜和,徐　铃,1998. 复制酶体的展望和疑问. 生物化学与生物物理进展,17(6):425～429
黄仲贤,颜伟强,1995. 锌指类基因调控蛋白——生物无机分子和分子生物学发展的新领域. 生物化学与生物物理进展,22(3):208～213
蒋达和,1990. 动物细胞DNA聚合酶的研究新进展. 生物化学与生物物理进展,17(5):339～342
金由辛,1992. RNA的编辑,基因分子生物学研究进展. 上海:上海科学技术出版社
李明,贾弘禔,1995. 蛋白质—DNA相互作用与真核基因转录. 生物化学与生物物理进展,22(1):13～17
刘望夷,祁国荣,1989. 真核生物核糖体RNA基因的结构与表达,真核生物基因的结构与功能,北京:科学出版社,46～94
刘　伟,1999. 细胞内蛋白质输送的信号理论和分子机理. 生物化学与生物物理进展,26(6):618—620
卢柏松,黄培堂,1994. 蛋白质剪接与一类新的可移动遗传因子. 生物化学与生物物理进展,21(6):491～494
陆长德,1992. 真核DNA复制,基因分子生物学研究进展. 上海:上海科学技术出版社
罗文捷,焦仁杰,翟中和,1995. DNA的核骨架结合序列(MARs)研究进展. 细胞生物学杂志,17(2):54～58
倪祖梅,1998. 端粒酶介绍. 细胞生物学杂志,20(4):145～152
沈珝琲,方福德　主编,1996. 真核生物基因表达调控. 北京:高等教育出版社
孙迺恩,1990. 分子遗传学. 南京:南京大学出版社
居　郑,张志文,梁克珊,1995. 真核细胞基因转录抑制的分子机理. 生物化学与生物物理进展,22(6):498～502
王亚馥,戴灼华主编,1999. 遗传学. 北京:高等教育出版社
杨福愉,1991. 蛋白质跨膜运送研究的新进展. 生物化学与生物物理进展,18(2):81～87
杨学军,冯威健,温进坤,1996. 端粒与端粒酶研究进展. 生物化学与生物物理进展,23(6):513～516
俞俊等,1998. 分子伴侣的多重功能. 生物化学与生物物理进展,25(2):106～110
张玉秀,柴团耀,1999. HSP70分子伴侣系统研究进展. 生物化学与生物物理进展,26(6):554～558
郑东东,1999. 分子伴侣在蛋白质折叠中的作用. 细胞生物学杂志,18(2):68～72
朱　桢,1994. 植物基因转移产物的定位与加工. 生物工程进展,14(2;3),51～58;24～30
Alberts, B., Bray, D., Johnson, A. *et al.*, 1998. Essential Cell Biology-An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc. New York & London.
Alberts, B. Bray, D., Lewis, J. *et al.*, 1994. Molecular Biology of the Cell, 3rd ed. Garland Publishing, Inc. New York & London.
Avers, C. J., Molecular, 1986. Cell Biology. Addison-Wesley Publishing CO. Inc. Massachusetts
Baker, T. A. and Bell, S. P., 1998. Polymerases and the replisome: machines within machines. Cell, 92(3): 295～305
Bukau, B. And Horwich, A. L., 1998. The Hsp 70 and Hsp60 Chaperone Machines. Cell, 92(3): 351～366
De Robertis, E. D. P. & De Robertis, E. M. F., 1987. Cell and Molecular Biology, 8th ed. Lea & Febiger, Philadelphia
Huberman, J. A., 1988. 真核生物DNA复制——一个被部分阐明的复杂过程. 国外医学——分子生物学分册,5: 237～238
Kong, X. P., Onrust, R., Q Donnell, M. *et al.*, 1992. Three-dimensional structure of the subunit of *E. coli* DNA Polymerase Ⅲ holoenzyme: a sliding DNA clamp. Cell. 69: 425～437
Lewin, B., 1997. Genes(VI), Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo
Murray, H. L. and Jarrell, K. A., 1999. Flipping the switch to an active spliceosome. Cell, 96(5): 599～602
Penberton, L. F., Blobel, G., Rusenhlum, J. S., 1998. Transport routes through nuclear pore complex. Curr. Opin. Cell Biol., 10(3): 392～399
Shamoo, Y. and Steitz, T. A., 1999. Biulding a replisome from interacting pieces: Sliding clamp complexed to a peptide from DNA polymerase and a polymerase editing complex. Cell, 99(2): 155～166
Schatz, G. and Dobberstein, B., 1995. Common principles of protein translocation across membrane. Science, 271: 1519～1526
Stukenberg, P. T., Studwell-Vaughn, P. And O' Donnell, M., 1992. Mechanism of the sliding β-clamp of DNA polymerase holoenzyme. J. Biol. Chem., 266: 11328～11334

第十五章

细胞增殖与细胞周期

细胞通过分裂进行增殖，把遗传信息一代一代传下去，从而才能保持物种的延续性。细胞能进行分裂和繁殖是生命活动一个显著特征，也是生命能够延续的基本保证。在生命系统进化中，这是极为关键的一步。我们可以这样说，没有细胞分裂就不会有生命的延续，也就不会有生命的存在。

早在19世纪，人们已认识到"生命来自生命"、"细胞来自细胞"这样的基本事实。无论是原核生物还是真核生物都要通过细胞分裂才能一代代传下去。由于子代同其亲代有极严格的相似性，因此使人们想到，细胞分裂同遗传信息的传递是密切相关的。现在已明确，细胞传递信息的遗传物质是DNA。遗传物质的复制、加倍和传递，以及蛋白质的合成是细胞进行正常分裂的基本前提。

细胞分裂现象在生物界中普遍存在。动物早期胚胎发育阶段，细胞分裂非常活跃，细胞数量快速增加，由一个受精卵逐渐分化出三个胚层，进而再分化为各种组织和器官；在成体甚至老年生物中，仍然要进行细胞分裂。如在高等动物中，血液中的血细胞、小肠粘膜上皮细胞、皮肤上皮细胞等要不断发生衰老和死亡，需要通过细胞分裂来补充所损失的细胞数量，以维持机体中细胞数量的相对平衡；而且创伤愈合、组织再生也依赖于细胞的分裂和增殖。细胞分裂一旦停止，机体很快就要死亡。

原核生物在分子结构和化学组成上与真核生物有着显著差异，如其遗传物质为裸露的环状DNA分子，不具有核膜和各种膜性细胞器等，因此，与真核生物相比，其细胞分裂及调控方式也比较简单。下面我们先简要向大家介绍一下原核生物的细胞分裂。

第一节　原核生物的细胞分裂

一、原核细胞的DNA复制和胞质分裂

原核细胞的分裂一般是简单的一分为二，且分裂速度很快。其分裂活动包括两个方面：①细胞DNA的复制和分配，使分裂后的两个子细胞均能分别得到亲代细胞的一整套遗传物质；②胞质分裂，把细胞基本上分成两个相等的子细胞。

原核细胞的DNA分子为环状，无游离端，平时折叠在类核区内。分裂开始前便与质膜的特定区域结合，在一系列酶的催化下，经过解旋和半保留式复制，形成了两个相同的环状DNA分子。DNA的复制常是由DNA附着在质膜上的某个部位开始的。在DNA分子复制完成之后，便开始了细胞质分裂。当然在开始分裂之前还需要细胞生长，细胞的生长反映了细胞内要按比例地合成一定量的结构蛋白和酶(图15－1)。

细胞分裂时，先由一定部位开始。复制好的两个DNA分子仍与膜相连，随着连接处的生长，把两个DNA分子拉开。在细胞中部，质膜环绕细胞发生内褶，褶中产生了新的壁物质，形成了隔(septum)(图15－2)。在有间体(mesosome)的细菌中，DNA附着在

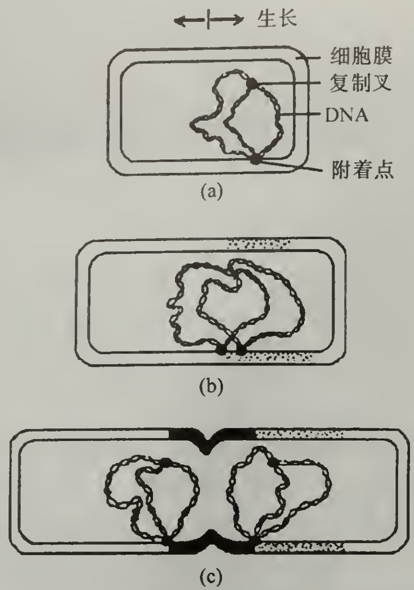


图 15-1　细菌细胞的 DNA 复制和细胞分裂
（自 Stent　1971）
(a) 复制开始；(b) DNA 复制完成，形成两个子 DNA 环；(c)子染色体分开，中间部位质膜内陷，形成隔

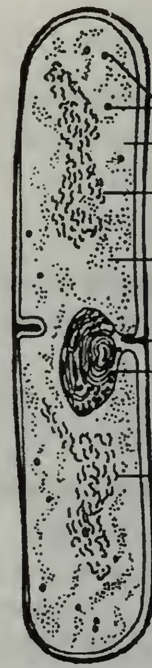


图 15-2　细菌细胞的结构：在间体部位形成隔（自 J. P. Dulguid et al. 1960）

间体上，隔往往发生在间体处的质膜区。在没有间体的细菌中，隔则发生在附着有 DNA 的质膜区。隔发生在附着有 DNA 的质膜区，显然有利于将复制的 2 个 DNA 分子分隔到 2 个子细胞中。质膜内褶所形成的隔不断向中央延伸，最后形成了将细胞隔为两部分的完整的隔。隔纵裂为二，把母细胞分成了大致相等的 2 个子细胞。

二、原核细胞分裂的控制

原核细胞是在 DNA 复制完成之后才开始细胞质分裂的，因此控制细胞分裂的因素首先是那些引起 DNA 复制的物质。通常细胞重量与 DNA 含量要超过一定比例 DNA 才开始复制。据此有人认为细胞质中存在着一种能激发 DNA 复制的物质，当这种物质积累到一定浓度时，DNA 开始复制。也有人认为细胞质中有 1 种能抑制细胞质分裂的物质，随着细胞生长，细胞质的量增大，冲淡了这种物质，于是引起 DNA 复制。现在看来前一种见解更有说服力。从大肠杆菌中分离出 1 种温度突变体，在高温(40℃)下培养，不能进行 DNA 复制；而在低温下培养，DNA 照常进行复制，这种突变对温度变化敏感。这种敏感性可能是由蛋白质的变化引起的。在高温下，这种蛋白质易于失活，只在低温下才具有活性。这说明 DNA 的复制是由 1 种(或几种)蛋白质来启动的。但是，引起原核生物细胞分裂的真正机制还有待于进一步探讨。

第二节　真核细胞的分裂

细胞分裂现象是在真核生物中首先发现的，因为真核细胞体积大、细胞核清楚，使用普通光学显微镜即可观察细胞的分裂活动。真核细胞的 DNA 分子以染色质的形式存在于细胞核中，细胞内还具有核膜和各种膜性细胞器，因此其分裂要比原核细胞

复杂得多,但基本过程也是包括遗传物质的复制和细胞质分裂两种主要变化。真核细胞的分裂方式一般分为无丝分裂(amitosis)、有丝分裂(mitosis)和减数分裂(meiosis)三种。减数分裂又称成熟分裂(maturation division),这种分裂方式只存在于高等生物配子的成熟过程中,从本质上看这是一种特殊类型的有丝分裂。

一、无丝分裂

无丝分裂(amitosis)又称直接分裂(direct division),是指处于间期的细胞核不经过任何有丝分裂时期而分裂为大小大致相等的两部分的细胞分裂。在其分裂过程中,不形成纺锤丝,也不形成染色体,只是核拉长成哑铃状,中央部分变细断开,细胞随之分裂成两个部分(图 15-3)。最早发现这种分裂方式的是 Flemming (1882),后来又不断有所报道,如在动物间充组织、肌肉组织、植物根尖靠近表皮的细胞中均有发现。但最常见的进行无丝分裂的生物是原生生物中的纤毛虫。

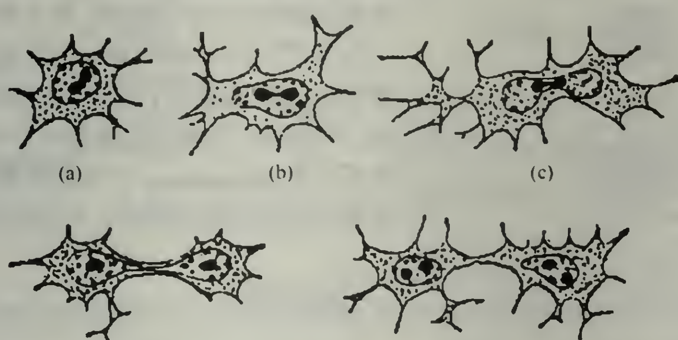


图 15-3 无丝分裂过程图解(自 Novikoff 1909)

(a)~(e)细胞无丝分裂形态变化顺序

无丝分裂究竟是否是一种正常分裂方式,一直存在有争论,特别是对高等生物的多核现象各有不同的解释。有的学者认为,所谓的无丝分裂实际上是细胞衰亡的病态现象。一般认为,无丝分裂并不是真核细胞的一种正常的分裂方式,只在低等的一些纤毛虫中最为常见。纤毛虫中普遍存在着无丝分裂,例如草履虫含有 1 个大核和 1 个小核,大核为营养核,小核为生殖核。分裂时小核行有丝分裂,大核行无丝分裂。在有性生殖时,大核分解消失,小核进行有丝分裂,由小核再产生出大核,故是小核把遗传性传到下一代。

关于大核的无丝分裂过程现已查清。由小核产生大核要涉及到一系列的变化。最初小核 DNA 复制变成含有一组多线染色体的发育中的大核。多线染色体上有带纹,分为许多带,相邻带之间有带间区。后来在带间区中产生隔膜,把各带区彼此隔开。膜把每一带区包围起来形成小泡。在小泡中 90% 的带间区 DNA 被分解,所剩下的 DNA 片段为含有基因的常染色质,可进行转录。有上万个小泡可相互融合成 1 个大核,大核中的 DNA 片段还可复制 3 次而变为成熟的大核(图 15-4)。因此大核中所含的 DNA 片段是由小核传递过来的,是有功能的基因的多拷贝。这样,草履虫在无性繁殖过程中,所谓大核进行无丝分裂,实际上是含有基因片段的许多拷贝的均分为二。这些基因可转录出维持个体生存的全部 RNA,但不能起传递物种遗传性的作用。

段晓刚 (1983) 观察到了羊草小孢子细胞有无丝分裂现象、然而有些小孢子成为

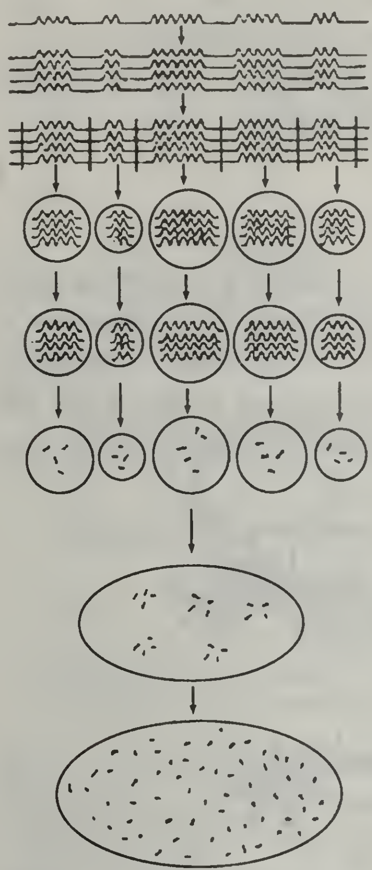


图 15－4　草履虫小核染色体逐渐转变成大核染色质的过程（详见正文）（自 Prescott　1974）

无核的花粉粒。他认为，羊草小孢子的无丝分裂是一种不正常现象。

目前多数学者不把无丝分裂看作是细胞分裂的普遍方式，故无丝分裂一般不被列为细胞的一种基本分裂类型。

二、有丝分裂

有丝分裂是由于在其分裂过程中出现了纺锤丝以及细丝状染色质而得名。有丝分裂过去又被称为间接分裂（indirect division）。100 多年前，Flemming（1879）首先描述了有丝分裂过程。他使用红血细胞和蝾螈上皮细胞为实验材料，发现在核分裂之前，每 1 染色体沿纵长一分为二，每一半归属到 1 个子细胞中。最终使每一子细胞获得了亲代细胞的一整套染色体。严格说来，有丝分裂是指核分裂，随之还有胞质分裂（cytokinesis）。母细胞要通过核分裂和胞质分裂才能分裂成 2 个完整的子细胞。

（一）核分裂

根据一些形态学上的变化，有丝分裂的核分裂可分为前期、前中期、中期、后期和末期五个时期（图 15－5）。

1. 前期（prophase）

前期是指从染色质卷曲凝缩成染色体开始到发生核破裂（有的原生生物的核膜在前期末并不破裂，直到后期才破裂）的这段时间。在前期中，核内染色质首先凝缩成模糊可见的线状，随后继续缩短变粗，在光镜下可以看出，每 1 染色体是由 2 条染色质线组成。每一条染色质线称为染色单体（chromotid），由 1 条 DNA 分子构成。同一染色体中的两条染色单体互称为姊妹染色单体（sister chromotid）。经过复制含有 2 条姊妹染色单体的染色体称为二分体（dyad）。前期开始时，染色体在核内均匀分布，随前期的不断进行，一方面染色体逐渐向核膜靠近，核呈中空状；另一方面，染色体逐渐变短变粗，初级缢痕和次级缢痕清晰可见，着丝点出现。每一染色体上有一部位较细，为着丝粒所在的部位，称为初级缢痕。每 1 染色单体具有 1 个着丝粒，在此处 2 条姊妹染色单体结合在一起。

着丝粒是染色质线的一部分，其 DNA 具有高度重复顺序，例如小鼠染色体的着丝粒约由 300 bp 重复片段重复几千次构成。在着丝粒两侧各存在有一个由蛋白质构成的三层式盘状或球形动粒结构（kinetochore）。动粒是染色体和纺锤体微管相连的部位，其详细结构见第十二章中染色体结构部分。

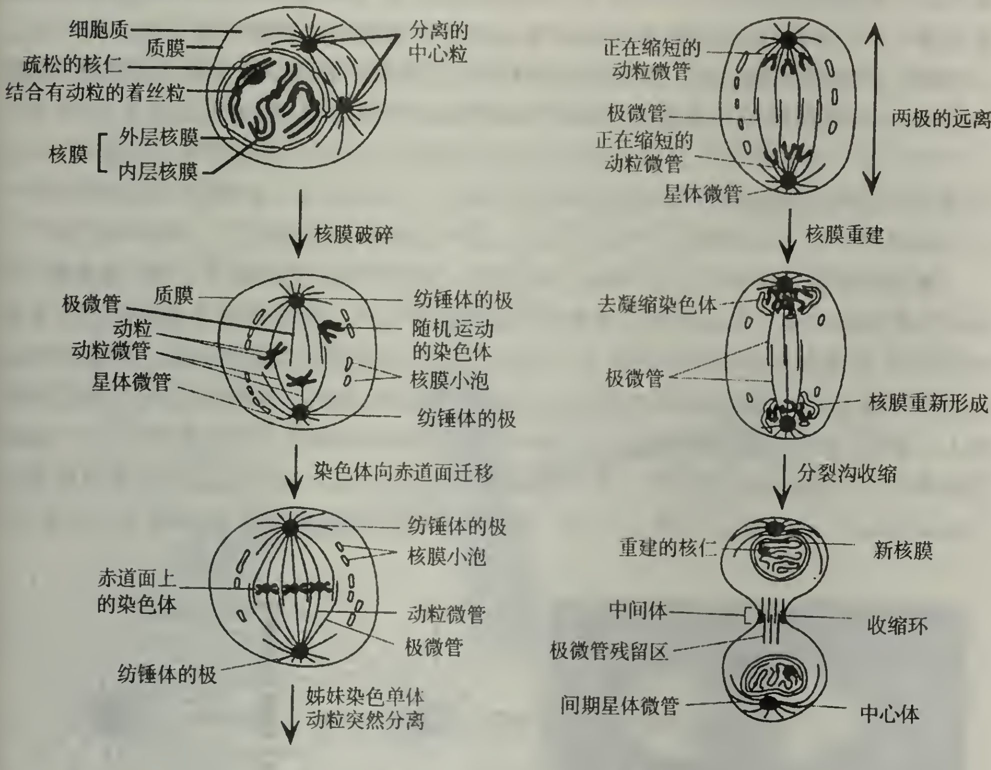


图 15－5　有丝分裂分期图解

前期染色体凝缩；中期染色体排列到赤道面上；后期姊妹染色单体分离，分别移向两极；末期子代染色体重建

在有丝分裂过程中除染色体本身的变化以外，还有一些发生在细胞质和核质中的变化，称为非染色质相变化，主要表现为形成有丝分裂器(mitotic apparatus)。有丝分裂器是一种微管系统，其主要构成成分为纺锤体，这一结构系统同姊妹染色单体精确分配到 2 个子细胞中有关。动物细胞和有运动能力的植物细胞，在间期核附近有 1 对中心粒，到 G1 期晚期，每一中心粒的一端侧面又装配成一新中心粒。每一对中心粒的四周分布有无定形的浅染物质，称为中心粒周围物质(pericentriolar material)，均具有微管组织中心的作用，而中心粒则对中心粒周物质的精确定位具有决定作用。前期开始时，每对中心粒的四周辐射出短的微管，称为星射线，形成的星形结构称为星体（astar）。动物细胞的有丝分裂器包括纺缍体和星体。两对中心粒之间逐渐形成由微管组成的纺锤体，由两极发出的纺锤体微管称为极微管（polar microtubule）。随着极微管的不断延长，位于核一侧的两对中心粒被推开，沿核膜彼此远离。由两极发出的两组极微管在纺锤体中部形成了一段重叠区，每一极发出的极微管构成了半个纺锤体。高等植物细胞没有中心粒，也不形成星体，但由于存在有中心粒周围物质，仍能形成纺锤体和进行有丝分裂。

纺锤体微管的大部分微管蛋白来自已存在于细胞质中的微管蛋白库。间期细胞在临近有丝分裂时，细胞质微管解聚成微管蛋白亚基。有丝分裂时细胞变圆，可能和微管解聚有关。微管解聚产生的微管蛋白亚基参加到细胞质微管蛋白库中，随后重被用来装配纺锤体微管。此时，细胞变成圆球形，且粘性增强。

前期末，核层蛋白磷酸化，核纤层解组，引起核被膜破裂成一些小单元。当子细胞

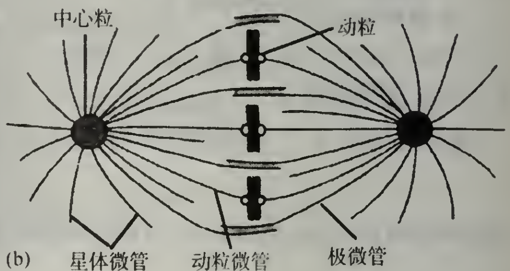
形成新核被膜时,这些小单元又参加了核被膜的重建。核被膜破裂后,纺锤体进入了核区。也有一些原始真核生物,在有丝分裂过程中核被膜不发生破裂。

核仁在前期中逐渐缩小,最后消失,核仁物质弥散到细胞质中。有的原生生物,核仁不消失,而随染色体一分为二。也有一些原生生物无核仁,如酵母。

2. 前中期(prometaphase)

核被膜破裂后随即进入前中期。在此期中,核周围的纺锤体靠生长端(游离端)不断添加微管蛋白异二聚体而延长并伸展到细胞的中心区。染色体的2条姊妹染色单体的着丝粒,在朝向极的一侧各形成1个动粒。此时,染色体在细胞的两极之间剧烈地进行旋转和振荡运动,部分纺锤体微管的自由端开始捕捉染色单体的动粒,最终相连到动粒上。最终,染色体的两条姊妹染色单体均由动粒连接到两极发出的微管上,这一连接是随机的。与动粒相连的微管又称为动粒微管(kinetochore microtubule)或染色体微管(chromosomal microtubule)(图15-6)。关于动粒微管的来源问题,尚有争议。目前,学


(a)



(b)

图15-6 有丝分裂器的免疫荧光图像及其模式图
(a)免疫荧光图像;(b)模式图解

者们一般认为,无论是极微管,还是动粒微管都是由两极发出的,动粒微管后来才连到动粒上。该看法的根据是,两组微管的极性方向是一致的,即都是极端为(-)端,伸到赤道面和动粒相连的一端为(+)端,即生长端;另外,虽然体外实验证实动粒也具有微管组织中心的作用,但到目前为止,在体内仍无确切的证据证明动粒就在微管组织中。

纺锤体正中的假想垂直面称为赤道面(equatorial plate)或中期面(metaphase plate)。在前中期中,由于牵引力与结合在动粒两侧的动粒微管的长度呈正比,故动粒微管将会牵引着染色体向牵引力较大即动粒微管较长的一侧移动,使染色体向着赤道面汇集(congression);一旦牵引力达到平衡,即两侧的动粒微管长度相同时,染色体正好位于赤道面上。结合在动粒两侧的动粒微管,其长度改变的动力来自微管"+"端的装配或解聚。根据缩时摄影观察,染色体并不是径直游向赤道面的一定位置,而是在振荡游动中移向赤道面。这是由于每条染色体的两条姊妹染色单体各连有一组动粒微管,分别向不同的极牵引力达到均衡时,所有染色体即同时以动粒整齐地排列到赤道面上。此期持续时间较短,在哺乳动物细胞中仅为10~20分钟。

3. 中期(metaphase)

一旦所有染色体都排列在赤道面上,便进入了分裂的中期。这时两条姊妹染色单

体通过动粒和动粒微管分别和一极相连(图 15－7)。在植物的分裂的细胞中,染色体占据了整个赤道面,小的染色体排列在内侧,而大的染色体排列在外侧。每一动粒上均连有微管,所连微管的数量因物种不同而有差异(图 15－8)。酵母细胞每一动粒上可连有 16 条左右,高等植物可多达 5000 条,而体外培养的动物细胞则有 34 条左右。此时,两侧动粒微管的牵引力处于平衡状态,染色体暂时在赤道面上处于静息状态。中期所持续的时间很短,此平衡状态一旦破坏,染色单体便开始向两极移动。如果此时用激光束破坏一个姊妹染色单体的动粒,则染色体便立即被拉向和完整动粒相连的一极。



图 15－7　中期染色体和动粒微管与纺锤体极的关系图解

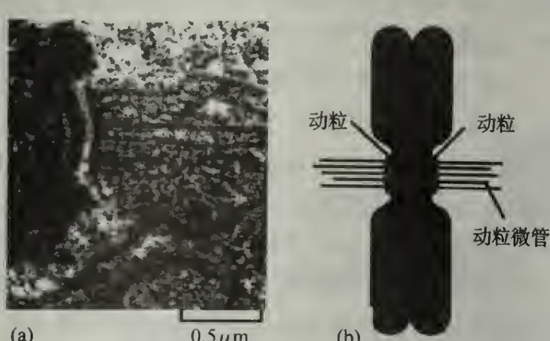


图 15－8　动粒微管与动粒的电镜图像及其连接关系图解
(a)电镜照片;(b)模式图解

最近发现,染色体分离之前所有的染色体必须要连到纺锤丝上,如有一条染色体没有连上,染色体就无法发生分离,从而使细胞周期无法继续进行。有研究表明,未连上的染色体的动粒能发出等待信号(waiting signal),使其他染色体不再分离,进入等待状态直至所有的染色体都连到纺锤丝上。最近有人报道,分裂细胞中的动粒不仅可将染色体连接到纺锤丝上,而且还可调节染色体分离的时间。如果用激光破坏最后一个未连到纺锤丝上的染色体的动粒,排列在赤道面上的染色体便会发生分离,细胞周期继续进行,形成两个非整倍体(aneuploid)子细胞。故学者们多把此限制点称为纺锤体检验点(spindle checkpoint),而将动粒称为细胞分裂的看门人(gatekeeper)。纺锤体检验点使纺锤体异常的细胞离开有丝分裂,从而可对细胞分裂进行调控。Murray 研究组和 Y. Li 等分别在蛙和人中鉴定出了 MAD2(mitosis arrest deficient, MAD)蛋白,发现该蛋白在染色体连接到纺锤丝之前在动粒处集中分布,而在染色体连接到纺锤

丝上之后便消失。因此学者们推测，MAD2 参加了“等待”信号，是促进细胞周期的必需成分之一。Gorbsky 在染色体尚未完全连接到纺锤丝上之前向培养的大鼠肾细胞中注射 MAD2 的抗体，结果染色体发生了非成熟分离。Tim Yen 指出，BUB(budding uninhibited by benzimidazole. BUB)蛋白和一个称为 CENP-E 的蛋白，在哺乳动物中能协助微管固定到动粒上，进而触发检验点途径的一系列变化，最终关闭“等待”指令的传递。最近有结果显示，Cdc20 可能是纺锤体检验点的靶蛋白。

4. 后期(anaphase)

染色体排列到赤道面上不久，各染色体中 2 条姊妹染色单体动粒的分离便打破了牵引力的平衡，两套姊妹染色单体分别向所对应的一极移动。两姊妹染色单体一旦发生分离，即各成为 1 个独立的染色体。两套染色体（姊妹染色单体分离后即称为染色体）以等速向两极移动。速度很慢，约为 1 ~ 2 μm/min。移动时着丝粒在前，两臂在后。由于不同染色单体上动粒所在的位置不同，染色单体在向两极移动时所呈现出的形态也不相同，可分别呈 V、L 或 J 形。

在进入后期之前，姊妹染色单体在着丝粒区连结在一起，直到后期才分离，关于分离的机制尚不清楚，但分离的动力与动粒微管的牵引力无关。有的学者认为，着丝粒的 DNA 序列中可能有特殊编码信号，能阻止本身的 DNA 在 S 期复制。直到后期，这些微量的 DNA 才进行复制，从而使姊妹染色单体得以分离。但这一看法尚未得到证实。

最近在酵母中鉴定出了一种后期促进因子（anaphase-promoting complex），至少由 12 种不同的亚基组成，是一种泛素依赖性的蛋白质连接酶复合物，又称为周期小体(cyclosome)。Kim 和 Hwang 等指出，Slpl 作为 MAD2 依赖性的细胞周期检验点的效应物，可与 MAD2 结合形成复合物，为后期的启动所必需。Elledge 认为，在接受纺锤体检验点信号后，MAD/BUB 途径便可通过 MAD2 来抑制 Slpl/Cdc20 的活性，使 Slpl/Cdc20 发生 APC - 依赖性的泛素化反应而被降解，从而破坏了 Pdsl 或 Cut2，使姊妹染色单体间的粘接蛋白(如 Sccl/Mcdl)失活，进而启动细胞进入后期。

姊妹染色单体分离后向极的移动和纺锤体微管的变化有着直接的关系，而与肌动蛋白和肌球蛋白无关。实验证明，用抗有丝分裂的化学物质（如秋水仙素）、低温处理、或破坏纺锤体的形成，就能使染色体单体停止在中期状态，不向两极移动，导致形成多倍体核。可是用抗肌动蛋白或肌球蛋白的抑制剂处理，对后期染色体的移动则无影响。

后期中两极的远离与染色体向两极移动是两种不同的变化过程（图 15-9）。两极的远离是两组极微管相互滑动和延长的结果。在电镜下可看到极微管之间有横桥，其化学成分为动力蛋白(dynein)。与纤毛中的一样，动力蛋白为一种 ATP 酶，可水解 ATP 为微管滑动提供能量。用动力蛋白抑制剂处理，便可抑制纺锤体的两极分离。随着滑动，两组极微管的“+”端(赤道区游离端)不断延长。而染色体向两极的移动则是动粒微管逐渐解聚所产生的拉力和动粒中行走蛋白(walking protein)的牵引力共同作用的结果。染色体向极移动的动力则是来源于动粒微管的动粒端(“+”端)。微管动粒端的逐渐解聚，使动粒微管的长度不断缩短，牵引染色体向两极移动。在细胞质中发现了一种类动力蛋白（dynein-like protein），该分子在分裂间期分布于细胞质中，而在分裂中期则定位在极、纺锤体和动粒部位。类动力蛋白与微管蛋白具有亲合性，在染色体向两极移动的过程中，起着动力供应的作用。关于染色体向两极的移动机制，目前有两种解释。一种观点认为，动粒中含有一种行走蛋白，为类动力蛋白的马达(motor)分子，随着

动粒微管“+”端的逐渐解聚，行走蛋白可借助于类动力蛋白所产生的 ATP 牵引着染色体在动粒微管上向两极逐渐行走，行走的速度与动粒微管“+”端的解聚速度密切配合，最后牵引着染色体移到两极。另一观点认为，动粒中含有一种与微管蛋白具有高度亲合力的蛋白分子，染色体向极移动的动力来源于动粒微管的动粒端（“+”端）的解聚。随着微管动粒端的解聚，牵引着动粒连同染色体向两极移动。由此可见，两组染色体移向两极是由两个单独的过程共同作用的结果，一是动粒微管解聚缩短，将染色体向极区牵拉；另一是纺锤体两极彼此远离。有的学者将前一过程称为后期 A(anaphase A)，而将后者称为后期 B(anaphase B)(图 15－10)。

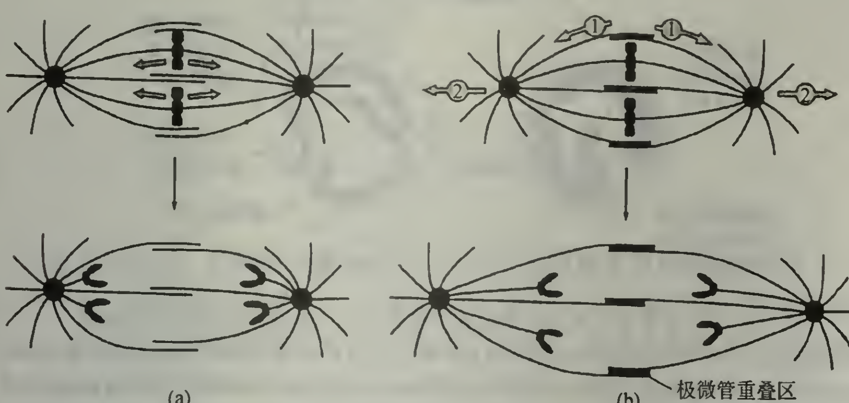


图 15－9　两极的远离与染色体向两极移动的模式图解

(a)染色体向两极移动的动力来自动粒微管(＋)端的逐渐解聚；(b)两极的远离是两组极微管相互滑动的结果(自 Alberts 1994)

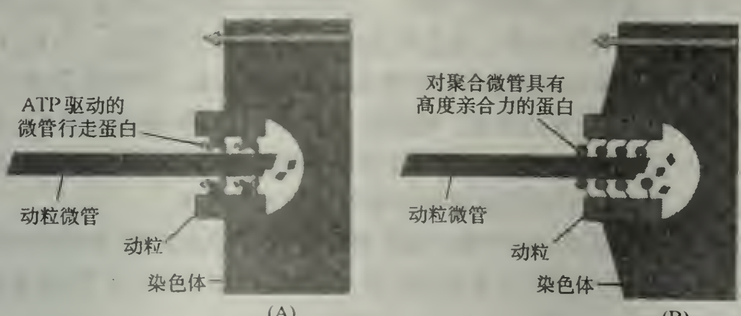


图 15－10　有丝分裂后期动粒对染色体产生拉力的两种假说

(A) 微管摩托蛋白构成了动粒的一部分，利用水解 ATP 产生的能量使染色体沿着与之结合的微管向一极迁移；(B)染色体的迁移动力来自微管的解装配。动粒与微管具有较强的亲和力，二者始终保持着结合关系。随着微管蛋白亚单位的解离，动粒被迫向极的方向滑动，牵引染色体移动(自 Alberts 1994)

用稳定微管的特异性药物，如紫杉酚(taxol)或重水(D_2O)，来处理细胞便可抑制染色体向极的移动。反之，当加入少量秋水仙素提高微管解聚的速率时，则会加速染色体向极的移动。加入动力蛋白抑制剂，对染色体移动无明显抑制作用，说明染色体移动与两极的远离各有不同的机制。

5. 末期(telephase)

染色体移动到两极,即进入了末期。染色体平均分配到两极后,在每组染色体的周围又重新形成了核被膜(图 15－11)。

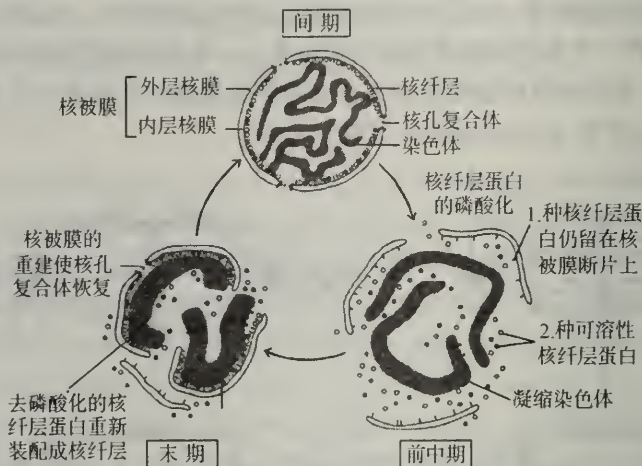


图 15－11　核被膜在有丝分裂过程中发生解体与重建的周期性变化图解

核被膜解体后,有一种核纤层蛋白仍结合在核被膜断片上;到末期,核被膜断片结合到各个染色体的表面部分包围了每个染色体;核纤层蛋白因发生去磷酸化而重新装配成核纤层、介导核被膜断片重新装配成带有核孔复合体的完整核被膜,从而把绝大部分细胞质排斥在核外(自 Alberts　1994)

前期时 3 种核层蛋白由于发生高度磷酸化而解组,引起核被膜破裂,核被膜碎片在有丝分裂过程中一直散布在纺锤体周围,一些核孔复合体则仍附着在染色体上。

末期时,核被膜碎片结合到各个染色体表面上,并互相连接融合。在此过程中,核膜又装配上了核孔复合体。前期以后的核膜碎片上仍结合有一种核纤层蛋白,核纤层蛋白的去磷酸化,使核纤层重新形成。核纤层不仅能与内层核膜相互作用,而且也能与染色体以及核孔复合体相结合。因此,在有丝分裂过程中,核纤层蛋白的磷酸化和去磷酸化的交替变化,分别对核膜的解体和重建起着调控作用。

核被膜重建后,凝缩的染色体逐渐去凝缩而松展,弥散成染色质,恢复 RNA 的合成,在核仁组织染色体的核仁组织区重新形成核仁。有丝分裂器逐渐消失,核分裂完成。

(二)胞质分裂

在染色单体去凝缩和核膜重建的同时,胞质粘度变小,从而也开始了胞质分裂(cytokinesis)。广义说来,有丝分裂应包括核分裂和胞质分裂。但也可把胞质分裂看作是一个单独的阶段。

大多数细胞,细胞质分裂起始于中、后期。而有些生物,细胞质分裂与核分裂并不同步。如大多数昆虫的受精卵,在发育中先是进行多次核分裂,产生了数千个核,而不发生胞质分裂,然后细胞质才进行分裂,在核间形成质膜、从而使每 1 个细胞含有 1 个核。某些菌类和藻类中也是进行多次核分裂,形成了一个大的多核细胞,以后才发生胞质分裂,而黏菌(slime mold)却是不具内部分隔的多核原生质团(图 15－12)。高等动物的横纹肌细胞和某些植物的花粉粒中也存在有多核现象。

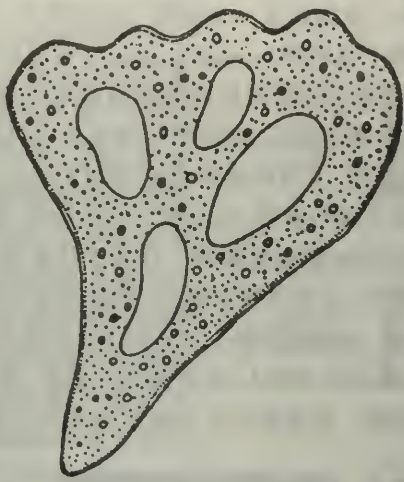


图 15 - 12 黏菌的多核原生质团

大多数真核生物,在细胞分裂过程中,核分裂和胞质分裂协调进行(图 15 - 13)。细胞质分裂面一般总是与纺锤体的赤道面一致,其方向约在核分裂中期即已确定。如果在中期时,用离心法改变细胞的纺锤体的正常位置,胞质分裂面并不随之改变。但如果在中期之前改变纺锤体的位置,那么胞质分裂面的方向也随之发生改变。

动物细胞在进行胞质分裂时,先是在要形成分裂面处的细胞质收缩,环绕着细胞表面出现一窄的环形凹沟,这条沟称为分裂沟(furrow)。分裂沟环绕细胞表面一圈,使细胞呈哑铃状(图 15 - 14)。分裂沟的形成与其质膜下方的细胞质微丝有关。如果用细胞松弛素 B 处理正在进行胞质分裂的细胞,则形不成分裂沟,胞质分裂停止;除去细

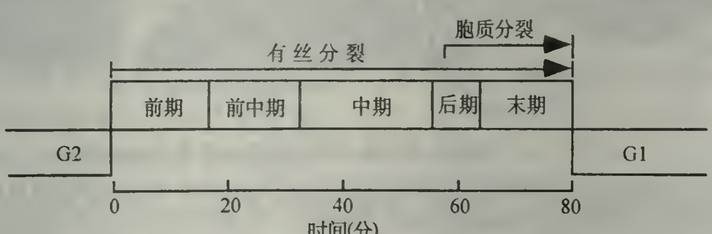


图 15 - 13 核分裂与胞质分裂时相协调的模式图解

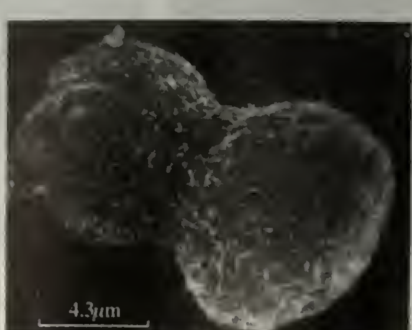


图 15 - 14 正在分裂的 SP2/0-Ag14 骨髓瘤细胞的扫描电镜图
示分裂沟的出现(自樊廷俊、李 波、韩贻仁等,1993)

胞松弛素 B 后，胞质分裂则又重新恢复。在电镜下可以看到，分裂沟处质膜下方的细胞质微丝束绕细胞一周形成了收缩环(contratile ring)。收缩环由肌动蛋白丝和肌球蛋白装配而成(图 15 – 15)。在赤道面附近围绕着逐渐解体的纺锤体的中部四周细胞质浓度逐渐增加，填满了整个赤道面部位，此增浓区域称为中间体(midbody)。随着收缩环的不断收缩，分裂沟逐渐加深，中间体越来越细(图 15 – 16)。最后，细胞分裂成 2 个子细胞。中间体结构在光镜下即可看到，在电镜下可以看出，此处微管集中成平行束，细胞质增浓，掺杂有浓密物质和囊泡状物质。这些平行微管束在分裂的后期便已形成。中间体出现在分裂后期，一直到末期才消失，其作用尚不甚清楚。

植物细胞因具有细胞壁，其胞质分裂方式不同于动物细胞(有花植物的花粉粒成熟分裂也和动物细胞一样，形成分裂沟)。最主要的差别是，植物细胞在进行胞质分裂时有细胞板(cell plate)的形成。细胞板产生于晚后期或早末期。植物细胞在末期时，

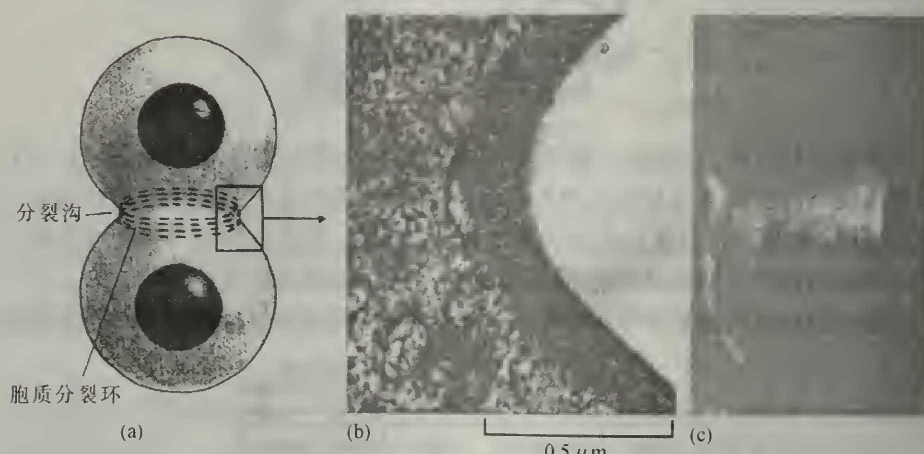


图 15 – 15　动物分裂细胞分裂沟的形态图解及电镜照片

(a)分裂沟的形态图解；(b)局部分裂沟的电镜图像，示分裂沟内侧胞质中成束的肌动蛋白丝；(c)利用肌动蛋白抗体进行荧光染色后的分裂细胞的免疫荧光照片，示分裂沟内侧胞质中环绕质膜的成束肌动蛋白丝(自 Alberts　1994)

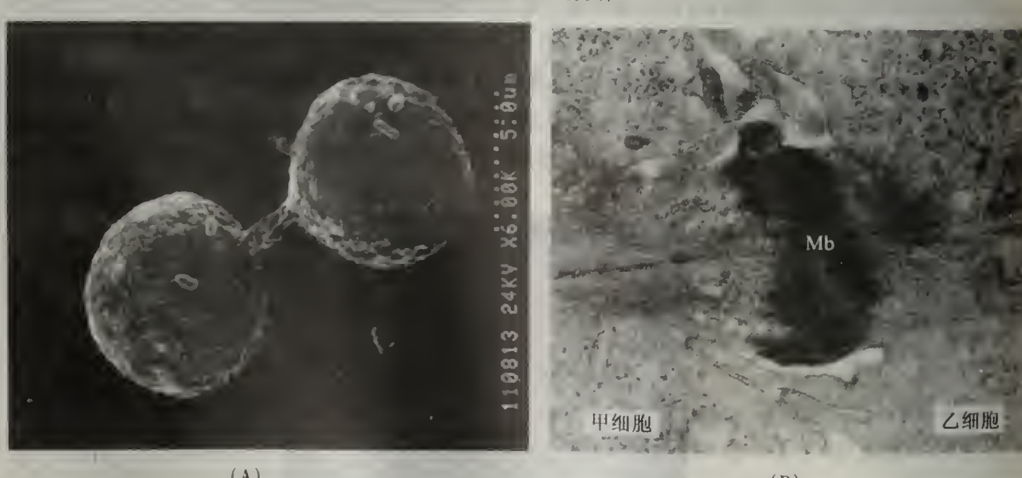


图 15 – 16　动物细胞分裂末期形成中间体的电镜图片

(A)细胞分裂末期的扫描电镜形态，两个子细胞间尚存在连桥；(B)细胞分裂末期的透射电镜图，中间体(Mb)处两个子细胞的大量微管在此交汇

两极的纺锤丝开始消失，但在纺锤体中部的微管数目增加。微管成束地与赤道垂直排列，其中部密电子物质连成一平面，预示出将来形成细胞壁的面。随后在赤道面部位集中了一些含密电子物质的小泡。小泡来自高尔基复合体，内装有碳水化合物和脂类物质。小泡附近也集中有内质网成分。小泡沿赤道面互相融合成大的扁囊。扁囊两层膜的内表面被覆以初生壁物质，这种结构总称为成膜体(phragmoplast)。最后，成膜体成为具有双层膜的细胞板。细胞板的两层膜和亲体细胞的质膜接合，至此细胞即被隔成了两个子细胞（图 15－17）。有一些物质不断向成膜体两层膜间填充，形成一固体层，即纤维素壁。纤维素壁由中央逐渐向四周延伸，以至和原细胞壁连接起来，从而变成了子细胞壁的一部分。但两个子细胞间仍保留着若干细线状的穿壁连接结构，此即胞间连丝（plasmodesmata)，是相临细胞之间的交通隧道。

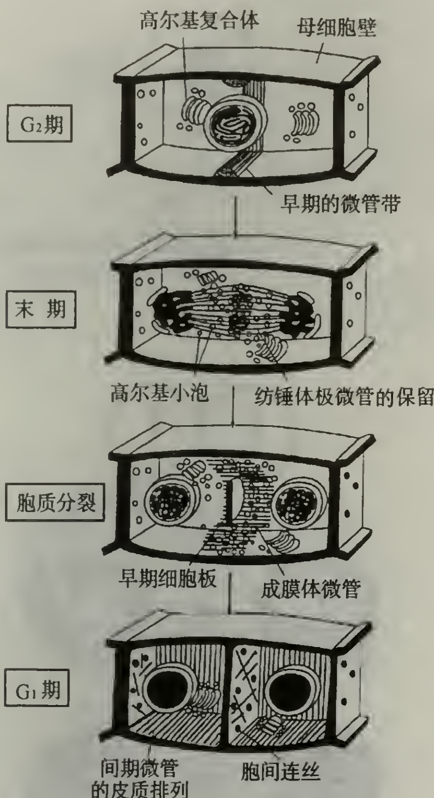


图 15-17 具细胞壁的高等植物细胞的胞质分裂过程图解（自 Alberts 1994）

胞质分裂完成后，由一个母细胞分裂为两个子细胞的过程宣告结束。但在高等真核生物的某些器官或组织中，还会出现一些特殊形式的有丝分裂。如哺乳动物肝细胞、某些昆虫幼虫的唾液腺细胞和植物的花药绒毡层细胞的核内有丝分裂（endomitosis)，蚊肠上皮细胞、玉米和水稻根尖细胞的体细胞减数分裂，培养癌细胞的多极分裂，以及培养人体细胞和植物花粉粒染色单体不发生分离的有丝分裂等。

综上所述，有丝分裂的特点是在 DNA 复制一次之后经过一次细胞分裂产生了两个子细胞，每个子细胞所含的染色体在数目和类型上都和亲代细胞一样，因此各代细胞的染色体数保持不变。有丝分裂是体细胞的一种正常的分裂方式。但在有性生殖的高等生物的配子发生过程中，还存在有另外一种分裂方式，这就是减数分裂(meiosis)。

三、减数分裂

减数分裂是生殖细胞成熟时的特有分裂方式。它与有丝分裂不同，在染色质复制 1 次之后，要经过两次分裂，结果子细胞所含的染色体数比亲代细胞减少了一半，故称为减数分裂。由于这种分裂方式只发生在生殖细胞的成熟过程中，故又称为成熟分裂。

在 19 世纪末叶 E. Van Beneden(1883)就发现蛔虫性细胞（卵子和精子）只含有体细胞的半数染色体。后来，A. Weismann 估计了这种现象的重大意义，曾预言，性细

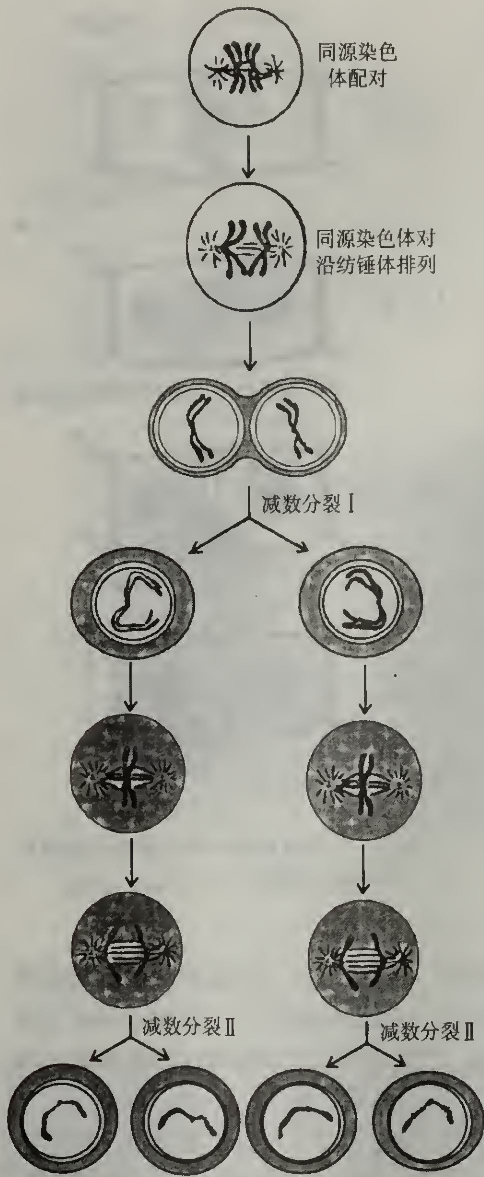


图 15-18　减数分裂的分期及其主要变化图解（自 Alberts　1994）

胞在成熟过程中染色体要减少一半，受精后又重新建立起体细胞原有的染色体数。经过许多学者的观察，肯定了 A. Weismann 的预言，证实在性细胞成熟过程中，每个成熟的性细胞只得到每 1 条同源染色体对中的 1 条染色体。这种成熟的性细胞为单倍体（1n），只含有 1 个基本染色体套（chromosome set）。卵子受精后，又得到了精子中的 1 个染色体套，使同源染色体配成对，染色体数加倍，因而合子和体细胞中染色体数称为二倍体数（diploid number），用 2n 表示。由于减数分裂要通过两次核分裂才能完成，故把减数分裂过程划分为减数分裂Ⅰ（meiosis Ⅰ）和减数分裂Ⅱ（meiosis Ⅱ）两次分裂（图 15-18）。

（一）减数分裂Ⅰ

减数分裂与有丝分裂一样，其核分裂也可分为前期、前中期、中期、后期和末期几个时期。

1. 前期Ⅰ

减数分裂第一次分裂的前期比有丝分裂的前期长得多，可长达数周、数年甚至数 10 年，而且染色体也表现出相当复杂的形态变化，因而又将前期Ⅰ分为细线期（Leptonema）、偶线期（zygonema）、粗线期（pachynema）、双线期（diplonema）和终变期（diakinesis）5 个阶段（图 15-19；15-20）。

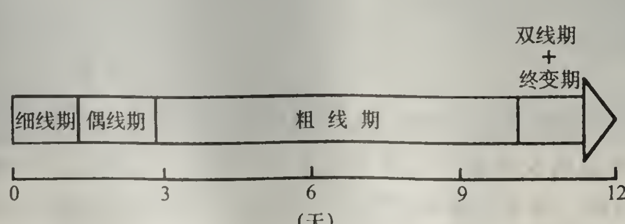


图 15-19　减数分裂前期Ⅰ的分期及其所需时间图解

(1)细线期:此期中染色质开始凝缩,故又称凝缩期(condensation stage)。染色质凝缩成细丝状,每一条染色体线中含有两条染色单体,故称为二分体(dyad)。两条染色单体之间有蛋白质性的物质,使两条染色单体结合紧密,每条染色体仍表现为一条线。染色体线上有许多部位由于DNA分子更加凝缩变粗而呈粒状,这些颗粒状结构称为染色粒(chromomere)。核的体积增大,核仁也变大。在核靠近中心粒的一侧,染色体端部通过附着斑(attachment plaque)同核膜相连,从而使染色体在核中呈花束状,故此期又称为花束期(bouquet stage)。染色体同核膜相连有利于同源染色体配对。

(2)偶线期:此期最主要的特征是同源染色体(homologous chromosome)发生配对,又称配对期(pairing stage)。配对没有一个特异起始位点,有时同源染色体以其端部相互结合,然后向另一极逐渐进行配对。而另外一些情况是,配对同时发生在长线的多个部位。配对精确专一,在每对同源染色体之间一点一点地进行、一个染色粒一个染色粒地进行;在配对的过程中,两条同源染色体并未完全合并在一起,而是由一个约为150~200nm的空间隔开,此空间为蛋白质性的联会复合体(synaptonemal complex)所占据,联会复合体是同源染色体进行配对和联会的结构基础。

同源染色体之间建立联系的配对过程又称为联会(synapsis)。同源染色体配对完成时,联会复合体也发育完全,至此偶线期结束。在偶线期中,配对的2个同源染色体仍表现为2个单一结构,每个染色体尚未表现出有双线成分(图15-21)。

联会复合体是由核蛋白质组成的一个扁平发夹式(ribbon-like)的三分区结构,总宽度为150~200 nm左右。在细线期时,同源染色体对的每1染色体在相对的(内)侧面,姊妹染色单体之间,各形成一条状的边侧成分(lateral component),宽约20~80 nm。边侧成分在偶线期中同源染色体配对,一对同源染色体的2条边侧成分之间为一中央区(central region)。由中央区把同源染色体的两边侧成分连接起来,构成了联会复合体。中央区的宽度约100 nm。在中央区的正中有一纵向的密电子物质线,称为中央成分(central element)(图15-22)。中央成分与边侧成分之间由呈梯形排列的丝状物质横连在一起,中央区每20~30 nm长度中有3条

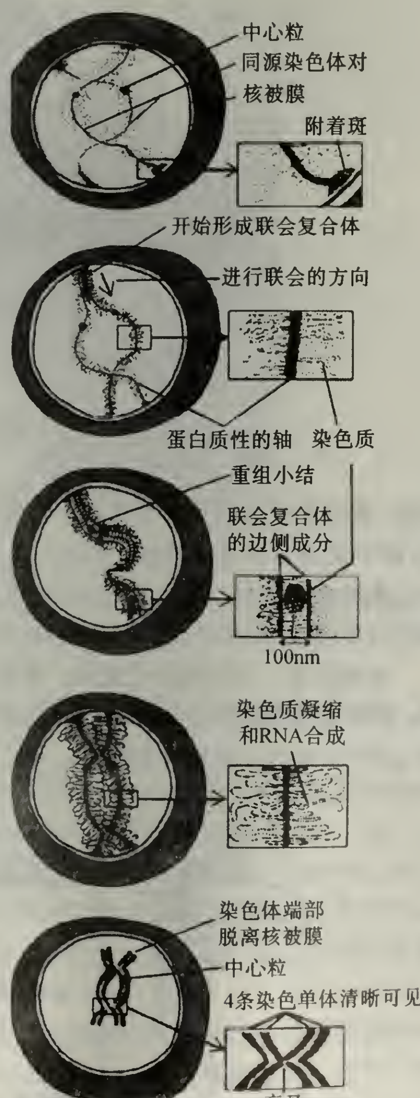


图15-20 减数分裂前期I的分期及其主要变化图解(自 Alberts 1994)

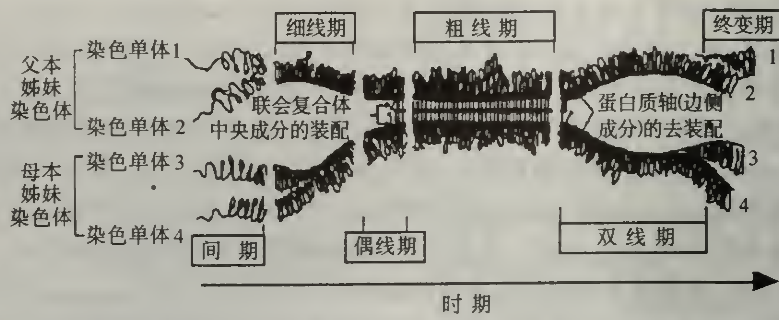


图 15－21　减数分裂前期Ⅰ中染色体联会和去联会的时空变化过程图解(自 Alberts　1994)

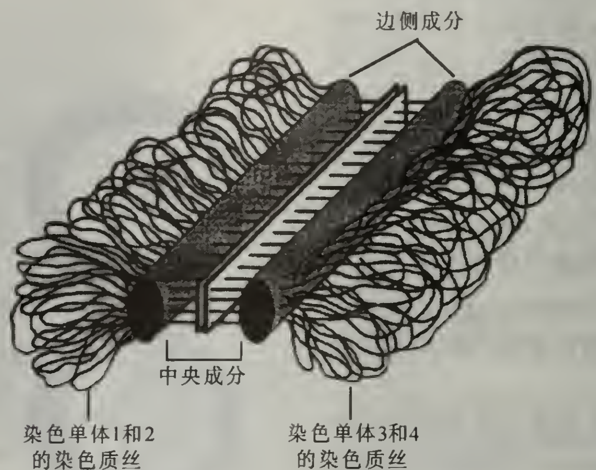


图 15－22　联会复合体结构的模式图解

横丝,横丝为蛋白质性质的物质。边侧成分在细线期末就已经出现在两条染色单体之间,而中央成分直至偶线期才形成(图 15－23)。联会复合体的形成是染色体发生交叉和交换的必要条件,联会一旦形成即发生交换。在边侧成分形成之后,如果在偶线期抑制蛋白质合成,则形不成联会复合体,染色体也不能发生交叉。

在昆虫中,中央成分更复杂,形成一个梯状结构,包括三条密的平行线和许多横桥。横桥是每隔 20～30 nm 一个,这些桥是由跨越中央和边侧成分的细的原纤维形成的,原纤维与中央成分垂直排列。

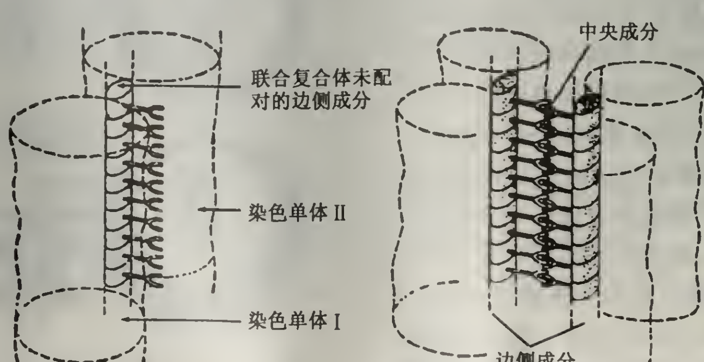


图 15－23　同源染色体间联会复合体结构模式图

在染色体开始配对时,DNA 已卷曲压缩为 300:1。在联会复合体的边侧成分上只有 0.3% 的 DNA 参加配对。这时的染色体纤维形成了螺旋环,每一环上只有一点与联会复合体相接。由于每 1 对同源染色体均以同样的方式卷曲,因此在联会时,同源染色体的相应基因在位置上准确相对。

偶线期时,染色体仍以端粒附着在核膜上。绝大多数真核生物的核膜均可有二价体端部附着。联会复合体通过端粒连接至核膜上的部位有一个加厚的密电子结构,称为固定板(fixation plate),从而将联会复合体牢固地连接至核膜上。伴随着端粒固定到核膜上,核孔也发生重新分布,此时的核孔不再均匀分布,而是集中在固定端粒的核膜区。可是某些动物中,二价体两端在核膜上的附着区具有一定的极性,多集中在近中心粒的一侧。具有核仁组织区染色体,只有一端附着在核被膜上,另一端伸入核仁区中(图 15-24)。

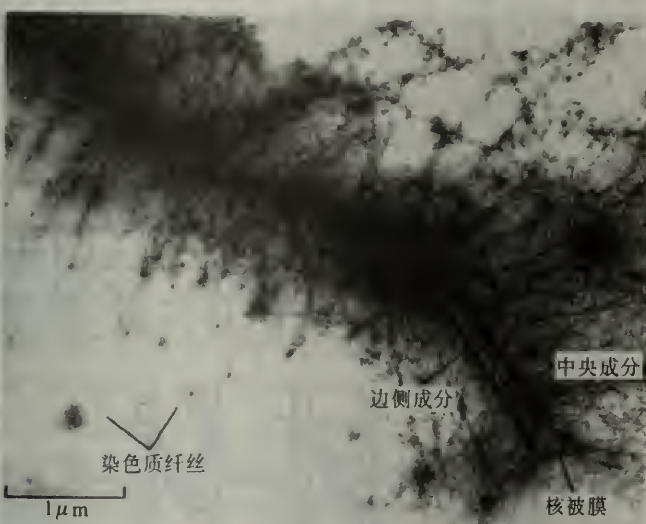


图 15-24 同源染色体间联会复合体电镜图像

联会复合体位于两对同源染色体之间。其一端固定在核被膜上,由两个边侧成分和一个中央成分组成,沿边侧成分向外伸出许多细的染色质纤丝(自 Alberts 1994)

在减数分裂中同源染色体的配对和形成联会复合体有着很重要的生物学意义。配对和联会同一系列连续变化过程有关:

1)染色体同核膜相连。在细线期染色体未配对时,其端部和中部的边侧成分同核膜相连,有利于同源染色体结合。染色体端部移向核膜可能受微管束的引导。M. D. Bennett(1974)研究小麦形成花粉的性母细胞时发现,在边侧成分和联会复合体出现之前,核内出现了微管束。如果在细线期或偶线期开始时用秋水仙素处理细胞,则使联会受到抑制而形不成交叉。核膜和同源染色体相连的部位可发生移动,最后可使同源染色体的端部相距 300 nm。

2)偶线期 DNA 的合成。H. Stern 在百合的性母细胞中首先发现,在减数分裂前的 S 期中只合成了 99.7% 的核 DNA,大约有 0.3% 的核 DNA 是偶线期合成。这后一部分 DNA 称为偶线期 DNA[zygotene DNA, Z-DNA(注意:非左旋 DNA)]。在减数分裂前的 S 期,染色体有许多片段不复制,从而把姊妹染色单体紧密连结在一起。这些片段直到偶线期才以半保留方式进行复制,合成的 DNA 即为 Z-DNA。Z-DNA 长约 0.5×10 ~

1×104 bp,为单一顺序,G-C 含量很高。根据分子杂交实验表明,Z-DNA 分布于整个染色体上。在 Z-DNA 合成的同时,还合成了单链结合蛋白,可使 DNA 片段处于伸展状态。Z-DNA 在偶线期复制,可在此期合成一些 DNA 单链片段,这些片段可与同源染色体的互补片段结合,从而使同源染色体精确配对。配对首先是在这些部位发生。如果在细线期抑制偶线期 DNA 合成,则会引起染色体断裂。

此外,染色体在偶线期完成配对尚需要有蛋白质合成。

3)联会复合体的形成。这一结构的形成可使精确配对的同源染色体一直保持到粗线期,以利于非姊妹染色单体间发生交叉和交换。

(3)粗线期:又称重组期(recombination stage)。同源染色体配对完成,染色体进一步缩短、变粗。联会复合体结构仍然存在,配对的同源染色体称为二价体(bivalent)(由 2 条同源染色体组成),亦称四分体(tetrad)(含有 4 条染色单体)。每 1 条同源染色体由 2 条姊妹染色单体组成,每条染色单体具有 1 个着丝粒。在此期间,同源染色体间的非姊妹染色单体之间发生交叉(chiasma)和交换(crossing over)。1964 年R. Holliday对交换的分子机制作了解释,被称为Holliday模型(图 15-25)。此模型得到了许多实验数据的支持。

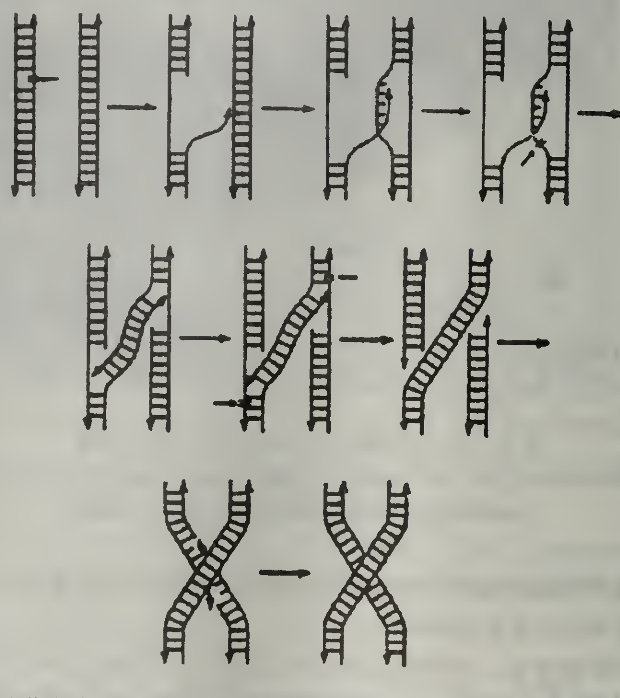


图 15-25　真核生物在减数分裂时非姊妹染色单体间进行交叉,发生遗传重组的 Holliday 模型

粗线期时,在两同源染色体间的中央区中,以不同间距装配成了一些球形或柱状的蛋白质集合体,直径约 90 nm,称为重组小结(recombination nodules)(图 15-26)。这种结构是与 DNA 重组有关的多酶集合体,可介导两条同源染色体的染色单体穿越 100 nm 宽的联会复合体。重组小结在数目和分布位置上与交叉一致。此外,在粗线期中发生交换的部位合成了少量 DNA,称为粗线期 DNA(pachytene DNA, P-DNA)。用电镜放射自显影显示,放射性 DNA 前体物主要在重组小结处或重组小结附近掺入到染色体中。这说明,重组小结的功能可能和染色体的交换变化有关。P-DNA 片段很短,只有100~200 个碱基对长。它不是通过半保留方式复制的,而是以单链修复方式合成

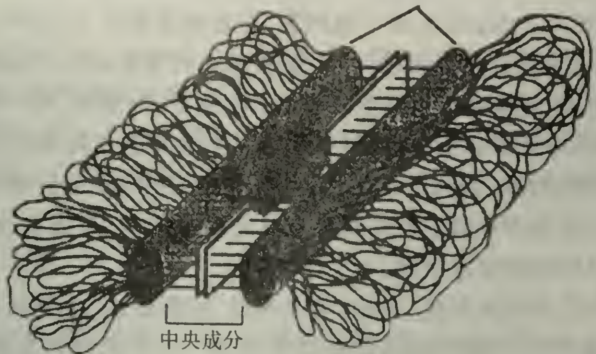


图 15－26　重组小结的存在部位示意图

的。P-DNA 的作用是把由于交换而产生的染色单体断头封闭起来，因此 P-DNA 的合成与染色体交换中的 DNA 重组有关，故 P-DNA 的合成又称为 DNA 修复合成(DNA repair synthesis)。染色体交换时有少量 DNA 被消化，P-DNA 合成的量与消化的 DNA 量相等，因而 DNA 修复合成并未使 DNA 总量增加。在粗线期中，和 DNA 修复合成有关的一些酶，如内切酶、DNA 聚合酶、连接酶和一些修复酶等，活性也相应达到一个峰值。

粗线期可能持续数天、数周甚至数年，而细线期和偶线期只能持续数小时。

(4)双线期：联会的染色体一些部位发生分离，联会复合体解体，姊妹染色体变得清晰可见。同源染色体只靠一些称为交叉部位联系在一起，只有两条非姊妹染色体单体参加交叉的构成(图 15－27)。动物卵母细胞可长时间处于双线期长达数周、数月、数年，在人中甚至可长达几十年。哺乳动物的卵母细胞在动物出生前后即停顿在双线期，性成熟后才先后分别发育成熟。如人卵在出生前的第五个月即到达双线期，一直保持到很多年后的性成熟后的排卵期。暂时处于停顿状态的哺乳动物卵母细胞，核中染色体又分散成网状，故这时又称为核网期(dictyate stage)。

卵母细胞在前期 I中要逐步积累大量的核糖体，贮存起来供胚胎早期发育之用。

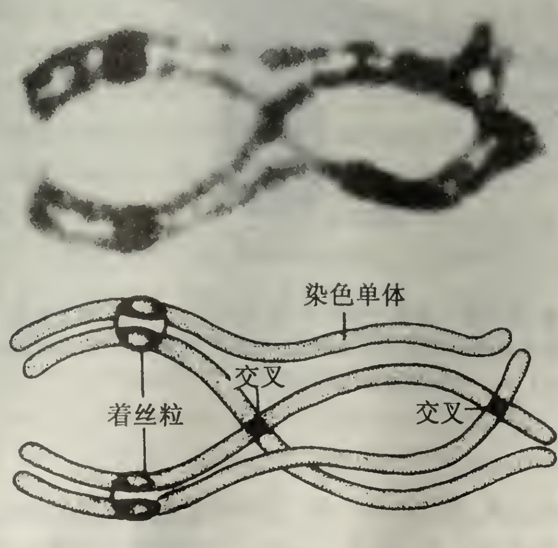


图 15－27　蝾螈卵母细胞双线期的二价体
图的上方为二价体的光镜照片，下方为该二价体的模式图

在爪蟾中发现，从粗线期晚期开始，rDNA 发生基因扩增现象，核仁数增多，rDNA 增加了一千倍。额外增加的 rDNA 在核的一侧积累，至双线期集中了 1000～1500 个核仁。rDNA 转录出 rRNA，组装成贮备核糖体。贮备核糖体的现象在爬行动物和哺乳动物中亦存在，但不一定是通过基因扩增的方式实现。在鱼类、两栖类、爬行类和鸟类的卵细胞中，此期中非凝缩染色体非常明显，以致于使核膨大并具有间期核的形态。此时，二价染色体形成灯刷染色体，为双线期的特征，与 rRNA 的合成及卵的快速生长有关。动物卵母细胞在双线期中普遍出现灯刷染色体的特殊结构，以转录出大量 mRNA，供卵细胞的生长及早期胚胎发育之用。

(5)终变期：染色体更加变粗、变短。交叉明显，而数量减少。交叉先从同源染色体中部逐渐消失，最后只在染色体端部尚保留交叉，交叉的这种端移过程称为端化(terminalization)。核内各二价体彼此分开，清晰可数。终变期临结束时，核仁、核膜消失，在染色体区纺锤体微管变得清晰可见。

2. 前中期 I

在进入中期 I之前有一过渡性的前中期 I。这时染色体高度凝缩，动粒微管连在动粒上。染色体向着纺锤体中部集中，最后二价体排列在赤道面上。

3. 中期 I

与有丝分裂中期不同的是二价染色体臂的端部位于纺锤体赤道面上，而同源染色体的着丝粒分居赤道两侧。同源染色体的每 1 对姊妹染色单体在着丝粒处并连在一起，作为一个功能单位，1 对动粒朝向同一极。动粒上连有动粒微管，两个同源染色体通过动粒微管分别连向不同的极(图 15－28)。

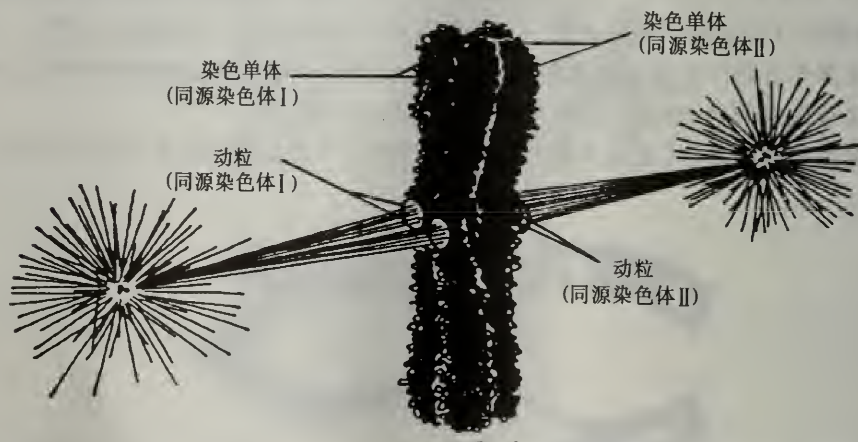


图 15－28　减数分裂中期 I染色体(二价体)的模式图解

一条同源染色体中，两条染色单体的动粒均与纺锤体微管相连，二者作为一个功能单位发挥作用，使同源染色体发生分离(自 Wolfe，S. L.　1972)

4. 后期 I

两个同源染色体分离，分别移向一极。这时每极的染色体数比亲代细胞减少了一半，为 1n。每 1 染色体为 1 个二分体 (dyad)，仍由两条染色单体组成。故含有二倍 DNA，整个细胞的 DNA 含量为 2C(C 代表 1 个基因组或单倍体的 DNA 量)。

5. 末期Ⅰ

有的生物没有末期Ⅰ，而由后期Ⅰ直接进入第二次分裂的前期或中期。有末期Ⅰ的生物在末期Ⅰ时，核膜重新出现；染色体松展、延长、但仍保持一定形态；核仁出现。

第一次分裂后，产生了2个细胞。有的生物这时细胞质不发生分裂，实际上只是核进行了1次分裂。分裂后细胞进入间期，间期的长短因生物物种而异。间期中不再发生DNA复制。

(二)减数分裂Ⅱ

第二次分裂也可分为前期、中期、后期和末期。其分裂方式与有丝分裂类似。通过第二次分裂，每1个核的DNA含量又减少了一半，为1C，变成了完全的单倍体核。

1. 前期Ⅱ

如果有在末期Ⅰ时染色体松展，那么到前期Ⅱ时染色体又凝缩。前期Ⅱ晚期，核膜再次解体，形成纺锤体。

2. 中期Ⅱ

染色体均集中到纺锤体中央。各染色体的着丝粒排列在赤道面上，2个姊妹染色单体的动粒分别各朝向一极，并通过纺锤体微管分别和一极相连。

3. 后期Ⅱ

姊妹染色单体彼此分离，分别移向一极。此期末，每极均集中有单倍体染色体组。

4. 末期Ⅱ

在单倍体染色体组周围形成核膜。染色体松展，逐渐弥散。每一核中重新出现核仁。继末期Ⅱ后，细胞质发生分裂，结果减数分裂的两次核分裂产生了4个单倍体细胞，称为四分子(quartet)。高等动物的雄性配子与雌性配子的发生有所不同，前者通过减数分裂产生了4个有功能的精子，后者则只形成1个有功能的卵子，其余3个细胞变为无功能的极体(polar body)，极体后来解体。卵子的这种发生方式和细胞质的不均等分裂有关，在两次分裂过程中，只有1个细胞获得了富含养料的绝大部分细胞质，这些营养物质可满足受精卵初期发育的需要(图15－29)。

植物生殖细胞的形成过程要更复杂一些。大多数植物的二倍体有机体（称孢子体，sporophyte）通过减数分裂产生雄性和雌性的单倍体孢子。植物在生殖器官中先形成二倍体生殖细胞，雄性的称为小孢子母细胞，雌性的称为大孢子母细胞。通过减数分裂。大孢子母细胞产生了4个大孢子，小孢子母细胞产生4个小孢子。4个大孢子中有3个退化，剩下的1个发育为雌性配子体。在受精前，大孢子和小孢子还要再进行有丝分裂，在雌蕊中大孢子进行3次分裂，产生雌配子体（八核胚囊），在雄蕊花药中小孢子分裂2次，产生雄配子体(花粉粒)。花粉粒中有2个精核，1个管核。受精时，1个精核同卵核融合，形成二倍体合子发育为新植物体（孢子体），另1个精核则同卵的2个极核融合，形成三倍体的胚乳核，通过有丝分裂产生营养性的胚乳(图15－30)。在大多数植物的生活周期中，这种孢子体和配子体轮番交替的现象即称为世代交替。

(三)减数分裂与有丝分裂的主要差别

减数分裂与有丝分裂有许多共同之处，但又有些显著的差别，这些差别主要有以

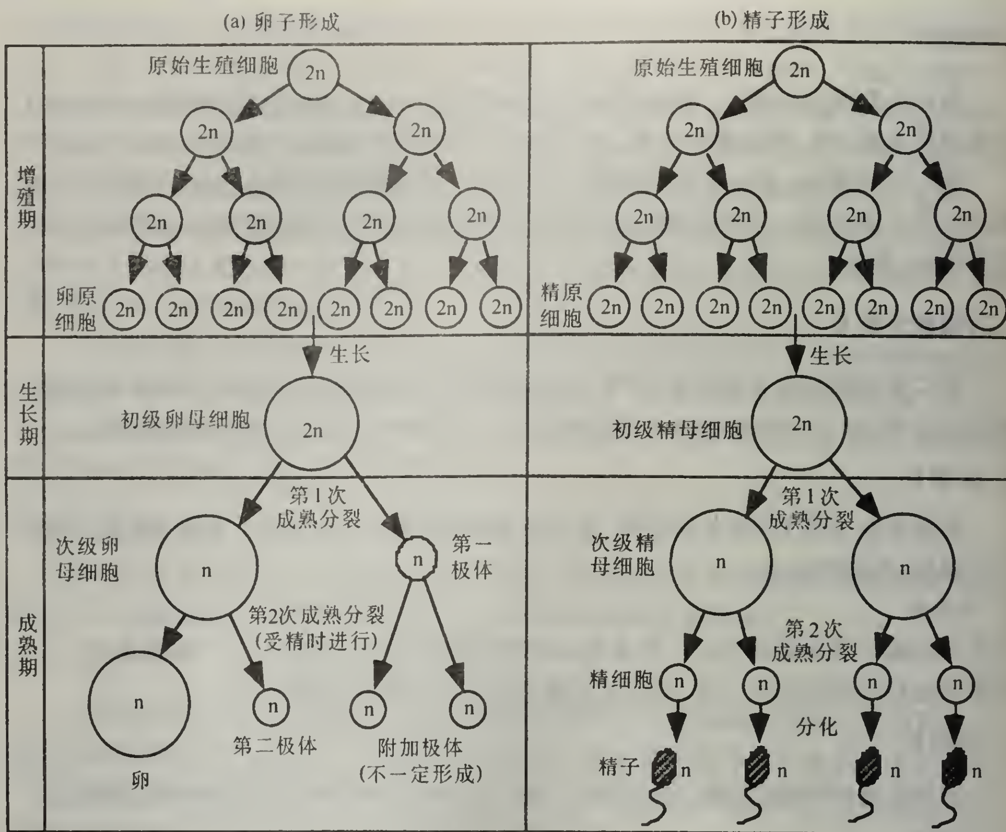


图 15-29 高等动物卵子(a)和精子(b)形成过程图解

每一卵母细胞只能形成 1 个有功能的卵子,而每一个精母细胞可形成 4 个有功能的精子

下几点:

(1)有丝分裂是体细胞的分裂方式,而减数分裂仅存在于生殖细胞中。

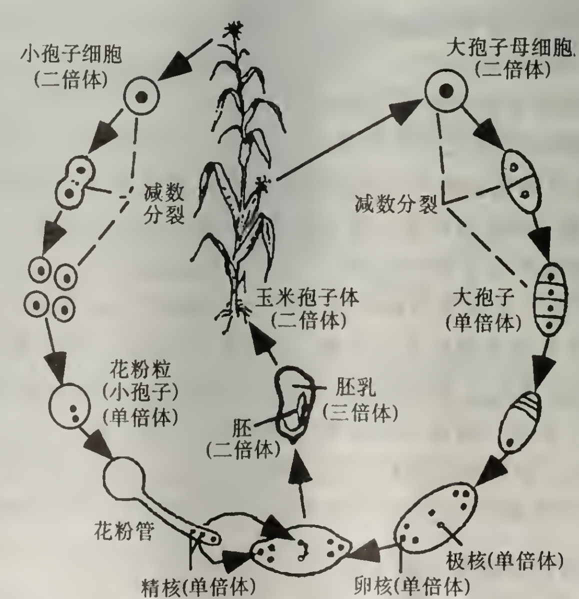


图 15-30 玉米的生活周期

大、小孢子母细胞(2n)经减数分裂产生大、小孢子(1n),再经有丝分裂产生雌、雄配子体

(2) 有丝分裂是 DNA 复制 1 次细胞分裂 1 次，染色体数由 2n→2n，DNA 量由 4C 减为 2C；减数分裂是 DNA 复制 1 次，细胞分裂 2 次，DNA 量由 4C 变为 1C，染色体数由 2n→1n。

(3) 有丝分裂之前，在 S 期进行 DNA 合成，然后经过 G_2 期进入有丝分裂期；减数分裂前 DNA 合成时间较长特称为减数分裂前 DNA 合成（premeiotic DNA synthesis），合成后立即进入减数分裂，G_2 期很短或没有。

(4) 有丝分裂时每 1 个染色体独立活动，同源染色体中的 2 个染色单体分别被分配到 2 个子细胞中，遗传物质不变；减数分裂中染色体要发生配对、联会、交叉和交换等变化，产生了遗传物质的多样性。

(5)有丝分裂进行的时间短，一般为 1～2 小时。减数分裂进行的时间长，例如人的雄性配子的减数分裂需 24 小时，雌配子甚至可长达数年。

在以上几点差别中，第 1、2、4 三点具有最重要的生物学意义。图 15－31 表示出两种分裂方式的几点差别。

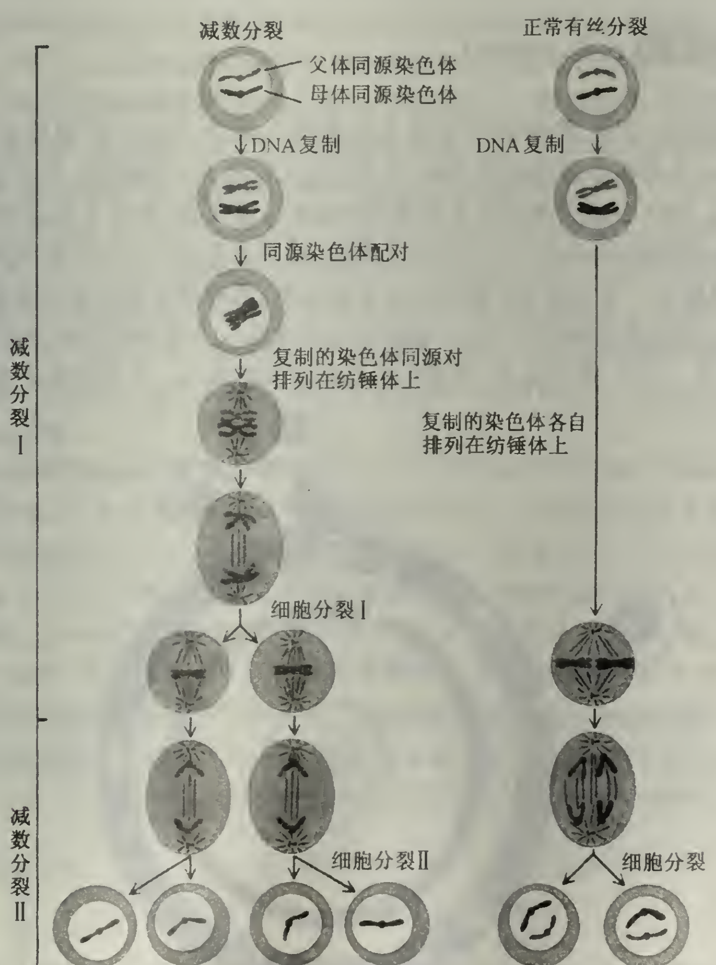


图 15－31　减数分裂与有丝分裂的主要特点比较图解

1 个二倍体细胞经减数分裂产生 4 个单倍体细胞；而在有丝分裂过程中，1 个二倍体细胞分裂成 2 个二倍体子细胞。图中仅用一对同源染色体代表两种分裂过程中的染色体变化

第三节　细胞周期及其调控

有丝分裂现象早在 100 年前即已发现。细胞在有丝分裂时期形态变化显著，利用光学显微镜即可看出染色体凝缩和移向两极，以及细胞分成 2 个子细胞的变化。在 20 世纪 50 年代以前，有丝分裂一直是大家研究细胞增殖的焦点，而把两次有丝分裂之间的时期称为细胞间期(interphase)，当时认为处于间期的细胞是安静的。

到 50 年代，已发明了一些新方法能在细胞水平上对细胞的生长、增殖、生理和代谢等动态变化进行研究。例如，利用放射自显影法可对 DNA 进行定位和合成变化的研究；利用 Feulgen 染色可对 DNA 进行定性研究。通过这些方法终于弄清了对细胞分裂具有决定意义的 DNA 复制，是在有丝分裂之前的"安静的"间期中进行的。在细胞分裂间期中不仅进行了 DNA 复制，而且 RNA 和蛋白质的合成也主要发生在间期。至此大家才认识到，细胞活动最活跃的时期不是在有丝分裂阶段，而是在两次相邻的有丝分裂之间的间期阶段。因此，细胞周期应包括分裂期和间期。

一、细胞周期(cell cycle)

在间期中，DNA 的复制时间只占间期的一部分，这一时期称为合成期 (S)(synthesis)。从有丝分裂结束到 DNA 合成开始之间还有一间隔期，称为合成前期(G_1)(first gap)。DNA 合成结束到有丝分裂开始也有一间隔期，称为合成后期(G_2)(second gap)。因此，间期可划分为 G_1、S、G_2 三个阶段，有丝分裂(M)只不过是细胞活动的另一个阶段。细胞由一次分裂结束到下一次分裂结束，都要经历相同的变化阶段(即 $G_1 \to S \to G_2 \to M$) 周而复始地进行活动，细胞的这种生长、分裂循环即称为细胞周期 (cell cycle)(图 15－32)。具体说来，细胞周期是指分裂细胞从一次分裂结束到下一次分裂



图 15－32　哺乳动物培养细胞的细胞周期和各阶段持续时间图解

结束所经历的时期和顺序变化。细胞周期的概念是由 Howard 和 Pelc 在 1953 年提出的，是从核活动的角度把细胞周期划分为 G_1、S、G_2 和 M 四个连续的时期。在有丝分裂末期还要进行细胞质分裂(cytokinesis)，因此有人主张在 M 期之后分立出一胞质分裂期(D)。但是细胞质分裂往往是伴随核分裂晚期一起进行，因此有的学者不主张单立一期。

细胞周期的概念不仅适用于进行有丝分裂的体细胞，同样也适用于进行减数分裂的生殖细胞。

在细胞周期中，各个时期的活动均各具特点：

1. G_1 期

在核分裂和细胞质分裂之后，细胞就进入 G_1 期。在此期中，细胞要发生一系列生物化学变化，为进入 S 期创造了基本条件。此期中最主要的是要合成一定数量的 RNA 和某些专一性的蛋白质。有的学者把这种蛋白质称为触发蛋白(trigger protein)，触发蛋白的积累有助于细胞通过 G_1 期的限制点(restriction point)(在酵母中称为起点，START)(又称监控点，checkpoint)进入 S 期。这种蛋白质又称为不稳定蛋白(unstable protein)简称为 U 蛋白，处于 G_0 期的细胞中缺乏 U 蛋白和其他一些因子，故暂时不能通过限制点。Baserga(1956)用放线菌素 D(Actinomycin D)作用于 G_1 期的细胞，这种药物可嵌插到 DNA 的碱基之间，特别是在 GC 丰富区嵌插，抑制 RNA 的合成，结果细胞就不能进入 S 期。同样，Teranima 和 Yasukaw(1966)用蛋白质合成抑制剂抑制 G_1 期的蛋白质合成，细胞也不能进入 S 期。此外，在 G_1 期中还有 H1 组蛋白的磷酸化，脱氧核苷的库存增加等变化(图 15－33)。Groppi 和 Coffino(1980)发现，G_1 期也有蛋白质的合成。

从上次细胞分裂结束到 DNA 开始合成之间的时期。此期合成了许多专一性的蛋白质(如组蛋白、非组蛋白及一些酶类)和一定量的 RNA。这些蛋白质即触发蛋白，触发蛋白积累到一定程度，即可通过 G_1 期的限制点进入 S 期；此外，还合成了微管蛋白和抑素(chalone)等。

动物、植物同类细胞的细胞周期的长短在同一生物体不同细胞中差别很大，主要是 G_1 期长度的差别，而 S 期、G_2 期和分裂期则相对恒定。例如小鼠消化道各段的上皮细胞传代时间分别是：舌 40 小时；食管 18.1 小时；十二指肠 18.5 小时，回肠 16.7 小时；结肠 32.6 小时，它们的周期时间不同主要表现在 G_1 期的长度不等，而 S 期的平均长度为 7 小时。有的动物胚胎细胞分裂迅速，可由有丝分裂直接进入 S 期，而没有 G_1 期；许多原生动物、真菌等也没有 G_1 期；高等植物中，细胞周期长度约为 10～13 小时的细胞，其有丝分裂期一般占 1 个多小时，与动物细胞相比，其 S 期持续的时间略有变化，休眠期的种子细胞大都处于 G_1 期。根据生理条件的不同，G_1 期可持续数天、数月甚至数年。一般，不进行分裂或极少分裂的细胞均停止在 G_1 期，因接触抑制（contact

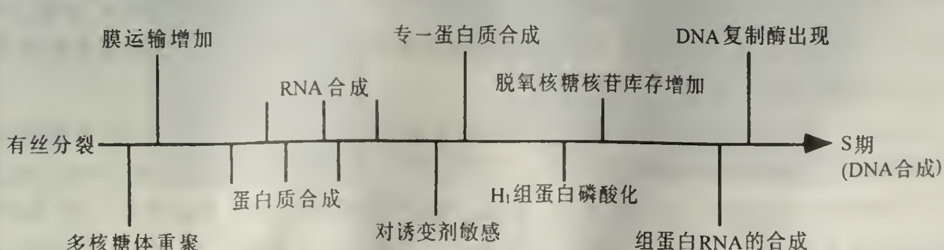


图 15－33　哺乳动物细胞在 G_1 期中发生的一些主要的生理、生化变化的模式图解

inhibition)而停止分裂的培养细胞也是停止在 G_1 期的。

在 G_1 期中产生了一种称为抑素(chalone)的物质,与细胞停留在 G_1 期有关。抑素具有组织特异性,如从上皮提取的抑素只能抑制该种上皮细胞的繁殖,而对其他细胞无效。抑素是一种水溶性物质、具有不可透析性、热不稳定和能为乙醇所沉淀等性质。提纯分析表明,抑素是一类蛋白质性的物质,肝细胞中的是一种低分子量的多肽,而淋巴细胞的是一种糖蛋白。肿瘤细胞对抑素的敏感性比正常细胞小了 2~4 倍(Honk and Hennings 1973)。Honk 等认为,肿瘤细胞之所以无节制地加速繁殖,是由于对抑素的敏感性降低了。

2. S 期

DNA 复制是 S 期的主要特征。此外,也合成组蛋白和非组蛋白。组蛋白的合成均与 DNA 复制同时进行,非组蛋白则在间期的各个时期都有合成,DNA 的复制和组蛋白的合成是密切配合的(Gurlez and Hardin 1968)。实验表明,如果用环己酰胺(cycloheximide)(有抑制 80S 核糖体合成蛋白质的作用)或其他抑制剂抑制细胞质中的蛋白质合成,则几秒钟后 DNA 合成即停止,反之,如果用羟基脲(hydroxyurea)抑制 DNA 合成,组蛋白的合成也会立即停止,但非组蛋白的合成却不受影响。组蛋白是在细胞质中合成,然后通过核孔进入核中同新合成的 DNA 结合(Tranev and Russev 1970)参加了染色体的构成。

各种细胞的 S 期长短不同,这种差别是由其本身的遗传性所决定(表 15-1)。

表 15-1　各种动物细胞 S 期的延续时间(自 Baserga, R. 1976)

细胞类型	S 期所占的时间(h)	细胞类型	S 期所占的时间(h)
小鼠		支气管	11.3
胚胎原始室管膜细胞	5.5	支气管癌	21~23
食管上皮细胞	8.5	食管癌	22~25
十二指肠上皮细胞	7.9	成红血细胞	11~13
乳腺细胞	21.7		
大鼠		皮肤基底细胞癌	19.0
脾生发中心细胞	4.5	结肠转移癌	20.0
人		培养的二倍体细胞	7.5
结肠上皮细胞	14.0	L-小鼠细胞	12.2
气管	13.0	HeLa S_2 细胞	9.5

Bao 和 Johnson 用 Hela 细胞融合技术研究了不同时期的细胞质对 DNA 合成的影响,他们发现,用 G_1 期细胞和 S 期细胞融合,则会引起 G_1 期细胞核合成 DNA;如果把 1 个 G_1 期细胞同多个 S 期细胞融合,则融合的 S 期细胞越多,G_1 期细胞核合成的 DNA 越快。他们认为,S 期细胞中有一种诱导物质(inducer)能引起 DNA 合成。一般情况下,细胞一旦开始 DNA 合成,则细胞周期要一直继续进行,直至完成有丝分裂,而不中途停顿。

Crossin 和 Carney(1981)发现,G_1 期中微管解聚可引起 DNA 合成。鸡、小鼠和人的成纤维细胞在无血清培养液中培养,当加入秋水仙素(浓度为 $1\times10^{-8}\sim5\times10^{-6}$ mol/L)等微管破坏剂时,便引起 DNA 合成,胸腺嘧啶核苷的掺入量提高了 1 倍。如果用微管稳定剂紫杉酚(taxol)事先处理细胞,则可抑制秋水仙素引起 DNA 合成的作用。这说明,微管的解聚可导致 DNA 合成和细胞分裂。他们认为,这是由于秋水仙素

抑制微管装配，使细胞质中游离微管蛋白二聚体库存增加，微管蛋白二聚体对微管蛋白基因的转录具有调节作用。

3. G_2 期

DNA 复制完成以后，细胞就进入 G_2 期。在 G_2 期中，1 个细胞核的 DNA 含量为 4C，较 G_1 期的含量(2C)增加了 1 倍。细胞在此期中要合成某些蛋白质。如果在 G_2 期加入 P－苯丙氨酸代替苯丙氨酸掺入蛋白质，则可有效地抑制细胞进行有丝分裂，说明有丝分裂需先合成特定的蛋白质。在 G_2 期末合成了一种可溶性蛋白质，能引起细胞进入有丝分裂期。这种可溶性蛋白质为一种蛋白质激酶，在 G_2 期末被激活，从而使细胞由 G_2 期进入有丝分裂期。此种激酶可使核质蛋白质磷酸化，导致核膜在前期末破裂。此外，该激酶也可催化 H1 组蛋白高度磷酸化(每 1 分子 6 个磷酸)，引起染色质在临近有丝分裂时开始发生凝缩。在 G_2 期末，到进入 M 期前也存在着细胞周期监控点。

有人利用细胞融合做了如下实验：

G_1 期细胞与 S 期细胞杂交：结果 G_1 期细胞开始合成 DNA，说明 S 期细胞内有促使合成 DNA 的物质；

G_1 期细胞与 G_2 期细胞杂交：G_1 期细胞并不起始合成 DNA，说明促使合成 DNA 的物质在 G_2 期消失；

G_1、G_2、S 期细胞与 M 细胞杂交：G_1、G_2、S 期细胞染色质即开始凝缩，核膜解体，说明 M 期细胞中有能使核变化的物质(图 15－34)。

一般说来，细胞多半休止在 G_1 期，但有的细胞也可休止在 G_2 期。例如有少数休眠种子细胞则休止在 G_2 期。如果把间期细胞和处于有丝分裂期的细胞融合，间期细胞的染色质立即发生凝缩，核膜解体。可见有丝分裂期细胞中确实含有引起核变

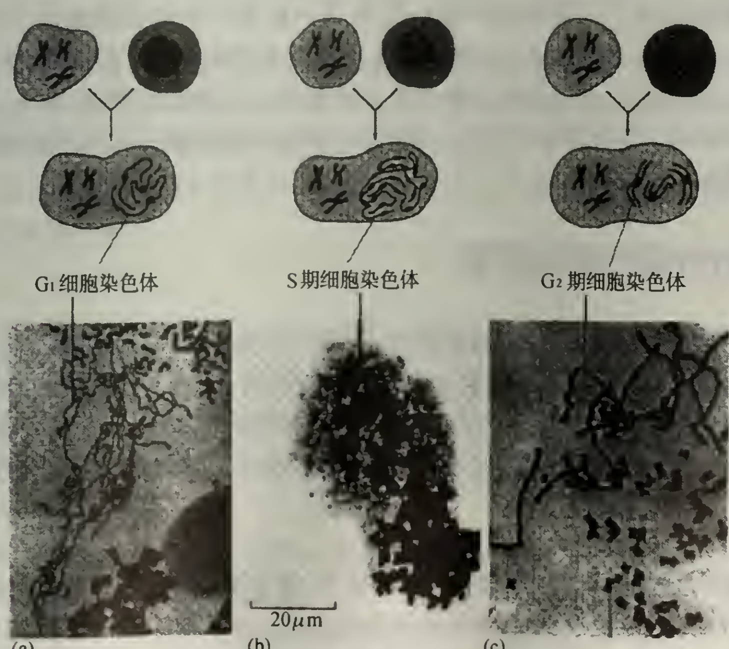


图 15－34　M 期细胞与处于不同周期阶段细胞的杂交实验

(a)M 期细胞与 G_1 期细胞杂交后，染色体凝缩成单线；(b)M 期细胞与 S 期细胞杂交后，染色体凝缩成碎片状；(c)M 期与 G_2 期细胞杂交后，染色体凝缩成染色单体

化的成分。

4. G_0 期

在细胞生长繁殖过程中，一般前一周期的结束就是下一周期的开始，可是有的细胞则不进入下一周期，而暂时退出了细胞周期，细胞这时所处的这种拘留状态称为 G_0 期，又称为 G_0 态（G_0 state）。细胞周期长度的调节通常将细胞拘留在 G_1 期的某个特定点——G_0 期上。处于 G_0 态的细胞可以认为是暂时退出了细胞周期。G_0 期这一概念是 1963 年由 Lajtha 提出来的。他发现有些细胞不合成 DNA，也不进行分裂，而处于静止状态达数周、数月，甚至更久。这种细胞受到适当刺激之后又能进行 DNA 合成和有丝分裂。例如像肝细胞、肾细胞、小淋巴细胞和唾液腺细胞即是属于处于 G_0 斯的细胞。有人认为，G_0 期细胞在结构上与 G_1 期的没有差别，只不过是 G_1 期的延长。可是实验表明，这两种状态的细胞是不同的。G_0 期细胞只有在受到促细胞分裂刺激因子的影响才会转化到 G_1 期，这时 DNA 转录活动增强，非组蛋白水平提高。能使 G_0 期细胞重新进入细胞周期的物质，称为促细胞分裂剂（mitogen）。肝实质细胞是一种高度分化的细胞，很少分裂。可是当把肝部分切除时，剩下的细胞的生物化学活动急剧变化，不久（约 24 分钟）即出现有丝分裂相，随后分裂指数提高。肝脏恢复到原来体积后，有丝分裂又停止。新分裂的细胞随之生长和分化。此外，徐静发现，受创伤刺激的脑的神经细胞亦可重新进行有丝分裂。

动物细胞在细胞周期的各个阶段，其外形有显著的变化，从培养细胞中可清楚地观察到这些变化。细胞进入有丝分裂阶段往往变圆，表面遍布微绒毛；在 G_1 期，表面突出许多圆泡；到 G_1 期晚期，在细胞表面中央区出现微绒毛；到 S 期，细胞表面微绒毛几乎消失（图 15－35）。分裂周期中，细胞暂停不进入下阶段，此点即称检测点（Checkpoint）。

事实上，在细胞周期中，有丝分裂阶段占的时间很短，大部分时间处于间期。无论在体内还是在体外，一群细胞中在一定时间只能有一小部分细胞处于有丝分裂期（5%～10%）。在一群细胞中，一定时间有丝分裂相细胞所占的百分数，称为有丝分裂指数（mitotic index）。有丝分裂指数的大小因物种、组织和生理状态而异，一般生长活跃的组织间期短，有丝分裂指数高。有丝分裂指数是细胞传代时间的反函数，分裂一代所需时间短的，则指数大。

二、细胞分裂的影响因素

对于真核生物细胞分裂机制的研究，不仅具有重要的理论意义，而且也有重要的实际应用价值。例如，肿瘤细胞繁殖失去控制的原因，只有在摸清细胞分裂机制的基础上才能查明。影响细胞分裂的因素很多，调节细胞分裂的机制极为复杂，目前还没有达到对其全面认识的水平，就目前所知，影响细胞分裂的因素有如下几种：

1. 细胞的大小

在间期中细胞的重量不断增长。有人认为，细胞体积的倍增是细胞分裂的触发因素。在细胞增长期间，细胞质和细胞核的体积有一定比例，这一比例称为核质指数（nucleoplasmic index）（Hertwig　1903），可用公式表示：

$$NP=\frac{Vn}{Vc-Vn}$$

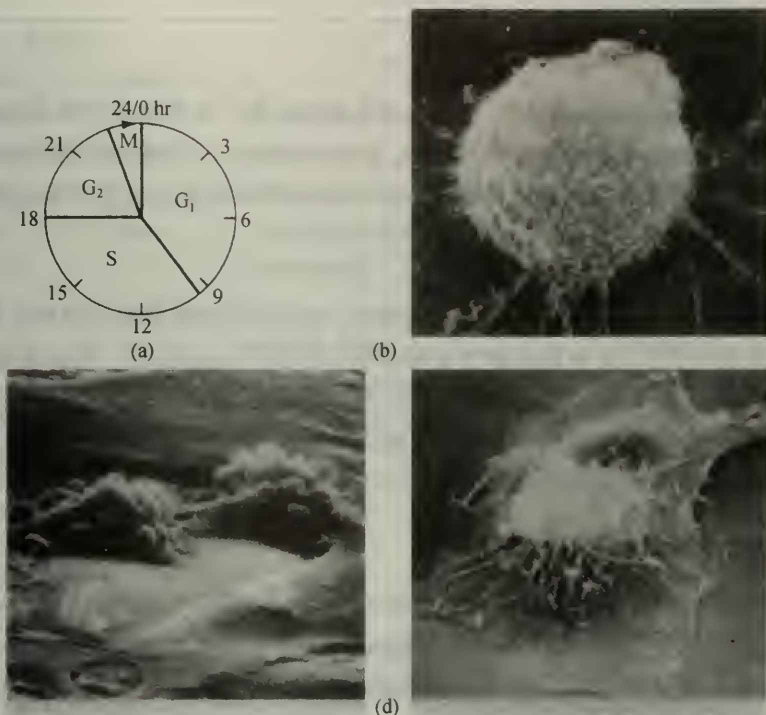


图 15 - 35　仓鼠培养细胞在细胞周期各个时期的外形特征

(a)典型的 24 小时细胞周期，有丝分裂期仅占很短的一段时间；(b)-(d)为扫描电镜图；(b)为一 M 期细胞，细胞变圆，表面遍布微绒毛；(c)晚 M 期—早 G_1 期处于分裂状态的子细胞，表面遍布圆泡，无棘状微绒毛；(d)晚 G_1 期细胞，圆形的中央区伸出微绒毛，其他部分无微绒毛。S 期的细胞，表面平滑，无微绒毛(自 Goldman, R et al. 1975)

式中 NP 为核质指数，Vn 和 Vc 分别代表细胞核和细胞的体积。当核质比例失调时则触发细胞分裂。例如，将临近分裂的变形虫通过震动，使其行不均等分裂，但每一个子代变形虫都得长到母代变形虫的重量时才进行分裂。

也有人认为，由于细胞的重量和体积的增长，造成了细胞表面积与体积的比例失调，从而触发细胞分裂。

2. 抑素

Bullough 和 Laurence(1960)在研究皮肤创伤愈合机制时发现了细胞中有一种具有抑制细胞分裂作用的物质，将其命名为抑素(chalone)。无论在体内还是体外，抑素均有抑制细胞分裂的作用。皮肤受伤后，细胞被破坏，抑素产量局部减少，浓度下降，引起细胞分裂。当细胞增殖，创伤愈合，抑素产量增加，浓度恢复正常，便又发挥出抑制细胞分裂的作用。抑素具有以下性质：

(1)无论在体内或在体外，均能抑制有丝分裂。

(2)具有组织特异性，无种间差异。

(3)制造抑素的组织即是该抑素作用的靶组织。

(4)抑素对有丝分裂的抑制作用是可逆的，对细胞无损害作用。

3. cAMP

在细胞内普遍可形成 cAMP，它除有作为激素的第二信使和通过激活酶来调节细胞代谢的作用外，尚对细胞分裂有调节作用。体外培养条件下，细胞的分裂速率同 cAMP 的水平成反比，向某些肿瘤细胞培养物中加入 cAMP，可使肿瘤细胞的分裂速率降低。

4. 接触抑制

培养中的正常细胞表现有单层生长的属性。当分散的分裂细胞达到相互汇合接触后，即停止分裂和生长，这种现象称为接触抑制（contact inhibition）。实验表明，质膜上的糖蛋白和糖脂可能和产生接触抑制有关。肿瘤细胞明显地丧失了接触抑制属性，细胞相互接触后仍不受控制地继续分裂，细胞重叠堆积，肿瘤细胞接触抑制性质的丧失同质膜的糖蛋白和糖脂成分的变化有关。

5. 激素

动物和植物的许多激素对细胞分裂有促进作用。例如脊椎动物脑下垂体的生长激素（somatotropin）刺激各种细胞分裂。雄激素（androgen）和雌激素也能刺激性器官组织和其他组织的细胞繁殖。雌激素的过多刺激有促进生癌的作用。植物生长素（auxins）（乙酸及其他一些类激素化合物）、细胞分裂素（kinen）（腺嘌呤衍生物）、赤霉素（gibberelin）（赤霉酸衍生物）以及其他一些类激素化合物，对植物细胞的生长和分裂有促进作用。

三、细胞周期的调控

细胞的增殖是通过细胞周期来实现的。人体内含有 2.5×10^{13} 个红细胞，其寿命仅为 120 天，要维持红细胞的数量，每秒要产生 2.5×10^{6} 个新的红细胞，可见细胞繁殖的速度有多快，但所产生的新细胞的数量刚好能补偿成体组织中死亡或丢失的细胞数量。由此可见，细胞繁殖是受到严格控制的，即细胞周期是在严格调控的前提下有条不紊地进行运转的。其中分裂期促进因子起到了重要作用。

（一）分裂期促进因子

分裂期促进因子（M-phase promoting factor, MPF）的主要成分为 P32 和 P45，它们 P_{34}^{cdc2} 和 P_{56}^{cdc2} 的同源物，是 cdc（cell division cycle）基因的产物，能促使染色质的凝缩。P_{34}^{cdc2} 对 G_1/S 之前对细胞分裂的启动是必需的，对 G_2/M 的转换也具有重要作用（如 H1 和 lamin 的磷酸化、染色质凝缩、核膜解体和纺锤体形成等），在中／后期转换时，P_{34}^{cdc2} 能激活连接在 Cdc 蛋白上的酶，而使靶蛋白 – Cdc 蛋白降解，其失活，又可导致 H1 和 lamin 的去磷酸化、染色质去凝缩、核膜重建和胞质分裂。但 MPF 要受到 cyclin 的控制。表 15 – 2 列出了酵母中的与细胞周期调节有关的基因及其表达产物的功能。

表 15-2 一些酵母细胞分裂周期基因及其功能

基因名称		基因产物	无功能突变体的表型
出芽酵母中	分裂酵母中		
CDC2	Pol3	DNA 聚合酶的 δ 催化亚基	停止在 S 期
CDC9	cdc17	DNA 连接酶	停止在 G_2 期，具有不完全复制的 DNA
CDC28		丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	停止在有丝分裂的起点或 G_2 监控点
SW16	cdc10	G_1 期周期蛋白基因的转录调控蛋白	无法进入 S 期
CLN 1,2,3	?	G_1 期周期蛋白	停止在分裂起点(三个基因同时失活)
CLB 1,2,3,4	cdc13		停止在有丝分裂的入口(G_2 期)监控点
WEE I	wee I	酪氨酸蛋白激酶	未成熟地进入有丝分裂(G_2 期)监控点，体积小
	cdc25	酪氨酸蛋白磷酸酶	停止在有丝分裂的入口(G_2 期)监控点
RAD9	?	功能不详的蛋白	DNA 的损伤无法阻滞有丝分裂(丧失反馈调控)
DIS2 S1	dis2	蛋白磷酸酶 I	停止在有丝分裂期

(二)细胞周期蛋白

后来在海胆的卵裂过程中，发现了在细胞周期的后期逐渐合成、至周期的中间阶段突然消失的周期性存在的蛋白质，在卵裂后逐渐积累，到 G_2 晚期达到高峰，到中/后期突然消失，故称为细胞周期蛋白（cyclin）。当周期蛋白与 P_{34}^{cdc2} 结合后，在一定条件下，能激活 P_{34}^{cdc2} 的活性。它和 cdc2 蛋白属于同一家族，cyclin 为调节亚基，Cdc2 蛋白为催化亚基。据序列特点和生理功能，可将周期蛋白分为三种：① S 期周期蛋白：为 cyclinA，在 S 期开始前就开始表达，到中期时开始消失；② M 期 cyclin: 为 cyclinB，在 S 期开始表达，在 G_2/M 时达到峰值，到中期向后期转换时消失；③ G1 期周期蛋白：在脊椎动物中为 cyclinC、D 和 E 等；在酵母中为 CLN1～3，它们在 G_1 期开始表达，进入 S 期后消失。三种周期蛋白均含有周期蛋白盒（cyclin box）的保守区，同时，M 期和 S 期周期蛋白（cyclinA 和 B）还有一个破坏盒（destruction box, RAALGNISN），具有降解周期蛋白 A、B 的功能；G_1 期周期蛋白虽无破坏盒，但有一个 PEST 序列，可能与其不稳定性有关（表 15-3）。

表 15-3 细胞周期蛋白的种类及其特点

种类	表达开始期	高峰期	消失时期	cyclin 盒	破坏序列
cyclin A	S 期开始前		中期	有	破坏盒
cyclin B	S 期	G_2/M	中/后期	有	破坏盒
cyclin C、D、E(CLN_{1-3})	G_1 期		S 期	有	PEST 序列

(三)影响细胞周期调控的因素

1. 生长因子及其受体

生长因子(growth factor)是细胞产生的一类多肽类物质，在细胞表面有其受体(图

15-36）；生长因子通过与细胞表面的特异性受体结合，经过细胞的信号传递系统，激活与细胞增殖有关的基因，从而引起细胞增殖。

生长因子具有一定的组织特异性。据组织来源不同，生长因子又可分为，神经生长因子（NGF）、表皮生长因子（EGF）、成纤维细胞生长因子（FGF）和血小板来源的生长因子（PDGF）。另外，还有一些淋巴因子（lymphokine），也能调节细胞增殖。

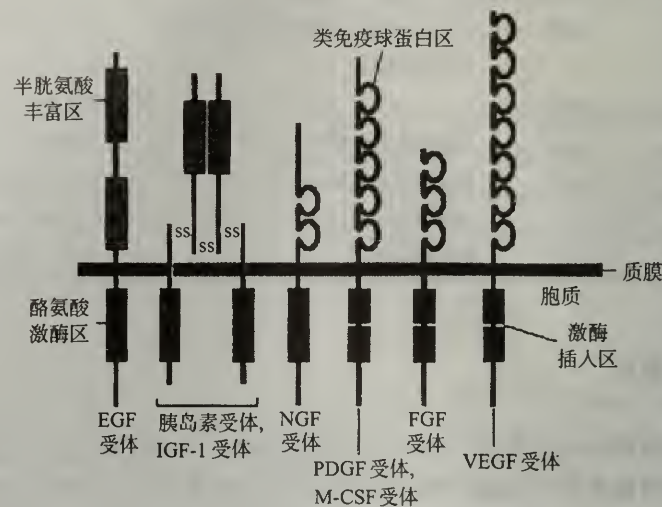


图 15-36　各种生长因子受体的结构图解

2. 癌基因和抑癌基因

癌基因在进化上高度保守，其表达产物大致可分为生长因子和生长因子受体、蛋白质激酶、癌蛋白以及转录因子、信号传导器等。这些表达产物通过不同的模拟作用（如分别模拟生长因子、生长因子受体、信号传导物质和转录因子等），能调控细胞的增殖和分化。抑癌基因具有抑制癌生长的作用。抑癌基因和癌基因相互配合，能调节细胞周期的正常运转。在此配合中，cdc2-Cyclin 起着引擎的作用，癌基因和抑癌基因等是通过与它们之间的相互协同作用，来调节细胞周期的正常运转的。这种调节一旦失控，便导致细胞周期产生紊乱，甚至能导致细胞的癌化和死亡。

3. 细胞的信使系统

近年来，人们逐渐认识到，GF、癌基因及其表达产物、离子传递及磷脂代谢三者共同协调，对细胞增殖和分化的调控作用，是通过信号传递系统来实现的。如细胞接受激素和 GF 等外界刺激后，不是通过第二信使 cAMP，而是通过双信使——双酰甘油（DG）和三磷酸肌醇（IP3）来实现的。

第四节　细胞分裂的同步化

细胞分裂一般是不同步的，无论是单核细胞群还是多细胞有机体的组织细胞，在某一时间只能有少数细胞在进行分裂。即使是一些海洋动物的受精卵、细菌、真菌在开始分裂时可以是同步的，但经过几代分裂之后，又变成不同步了，这可能是由于

细胞群中各个细胞对环境因素影响的敏感性不一样造成的。

细胞分裂的不同步,对研究细胞周期是不利的。只有使细胞周期同步化,获得大量同周期阶段的细胞,才有可能对一定周期阶段的细胞进行状态和生化分析。细胞周期同步化的方法大致可分为三类。

一、分选

这一类方法是把处于同一周期阶段的细胞挑选出来,加以集中。最简单的方法是用微吸管在显微镜下手工挑选中期细胞。如果用专门的电子装置挑选,每秒钟可挑出1000个细胞。但要快速取得大量同步细胞,则要使用其它方法:

1. 过滤

将细胞培养物用多层滤膜过滤,小细胞首先通过,集中起来进行同步分裂。此法常用于微生物的分选。

2. 蔗糖梯度离心

混合细胞悬液经密度梯度离心后,小细胞集中在蔗糖梯度的顶部,搜集起来便可进行同步培养。酵母和哺乳动物细胞培养物可用此法同步化分选。

3. 膜淘洗

把细胞培养物先结合到滤膜上,再用温热的培养液连续缓慢流经倒置滤膜,新形成的子细胞被冲洗下来,将在短时间内冲洗下来的细胞集中则成为高度同步的细胞。如果滤膜够大,即可得到大量同步化细胞。

二、化学同步化

一种办法是减少培养液中某种细胞必需的营养成分。过一段时间后再把该成分加进去,以达到同步化的目的。例如,大肠杆菌 T-15 是一种需胸腺嘧啶的突变体,将其在无胸腺培养液中悬浮培养,DNA 合成和细胞分裂被阻断,但 RNA 和蛋白质的合成仍以正常速率进行;经过一定时间加入胸腺嘧啶,30 分钟后 DNA 合成恢复,35~40 分钟后,所有细胞同时开始分裂。

另一种办法是使用某种化学物质将细胞暂时阻滞到有丝分裂的一定时期。例如,秋水仙素、高压氧化亚氮(nitrous oxide)、胸腺嘧啶核苷阻断、长春花碱等均可将细胞抑制在有丝分裂中期,细胞在此期积累。消除抑制后,即可发生高度同步化的细胞分裂。

三、物理同步化

1. 温度

温度是使细胞同步化的有效手段。因为分裂前细胞的一些酶对温度非常敏感,高温可使分裂停止,而生物合成继续进行,因此有些细胞发生分裂的时间推迟,其

他后进的细胞便趁此赶上来，达到同步化状态。Zeutnen 和 Scherbaum（1954）发现，将四膜虫（Tetrahymena）在 29.5℃（最适温度）与 34℃（抑制温度）两种温度下每半小时进行交替培养，经 7 次循环之后，再于 24℃下培养，结果有 85% 的细胞发生了同步分裂。

2. 辐射

辐射也是引起细胞同步分裂的方法之一。分裂前的细胞对射线很敏感，辐射可使细胞在分裂前积累，随后去除辐射，细胞便在同一时间开始分裂。

3. 有丝分裂抖落法

在哺乳动物培养物中还可利用有丝分裂抖落法（mitotic shaking – off）进行分选。其原理是，处于有丝分裂阶段的细胞外形变圆，附着力降低，因此经震抖后很易从附着的表面上脱落下来；其他阶段的细胞因呈伸展状而附着力强，故不易被抖落，这样通过震抖可将处于分裂期的细胞收集起来。

细胞周期的同步化只是暂时性的，经过几代分裂之后，细胞群又会处于周期不同步状态。

提　　要

生命的存在和延续是通过细胞生长和分裂实现的。细胞分裂的方式各类生物有所不同，原核生物多通过二分裂方式进行分裂，细胞在 DNA 复制以后，中部质膜内陷形成褶，并产生了新壁物质，使细胞一分为二。

真核生物的细胞分裂有 3 种方式，即无丝分裂、有丝分裂和减数分裂。其中无丝分裂可能不是一种正常分裂方式。

有丝分裂过程中，细胞核发生了明显的变化，根据其变化的特点，大体上可分为 5 个阶段，即前期、前中期、中期、后期和末期。

（1）前期：染色质凝缩成染色体，每条染色体由 2 条姊妹染色单体组成。纺锤体开始形成，核仁散开。

（2）前中期：核纤层蛋白磷酸化，核膜破裂，纺锤丝连接到染色体的动粒上。和染色体相连的纺锤丝称为染色体微管，其他纺锤丝称为极微管。染色体向着赤道面集中。

（3）中期：染色体排列在赤道面上，2 条姊妹染色单体靠着丝粒连在一起，并各面向一极。

（4）后期：姊妹染色单体的着丝粒彼此分开。随着染色体微管的缩短和极微管的延长，2 条姊妹染色单体各移向一极。

（5）末期：核纤层蛋白去磷酸化，在聚集在每极的染色体组周围形成核被膜，纺锤体散开，染色体松展，核仁重新出现。

在前中期染色体向赤道面移动和后期时染色体向极区移动均与纺锤体微管作用有关。前中期，2 条姊妹染色单体的动粒上各连有一组伸向一极的微管，由于两组微管作用力平衡，使染色体排列到赤道面上。后期中，染色体微管缩短产生的拉力和极微管延长产生的推力。共同使两组染色体分别移向一极。

细胞分裂过程中除核分裂外，还要进行细胞质分裂。各类生物的细胞质分裂方式不同。动物细胞，在细胞中部的质膜下方由微丝和肌球蛋白装配成环绕一周的收缩环，

随着收缩环的收缩，细胞表面不断内陷形成分裂沟，最后将2个子细胞的细胞质分开。植物细胞是通过在细胞中部形成细胞板，而将细胞质分隔开。成膜体从一极观，最初在细胞中央呈轮胎状，随后向中心和四周延伸，将细胞完全分隔开。成膜体中含有形成初生壁的物质。当成膜体膜和质膜相连后，即成为子细胞质膜的一部分，两层膜间的物质沉积成初生壁。藻类、真菌和细菌在胞质分裂时，先是质膜内陷，随之在内陷质膜之间有细胞壁物质沉积，不断内陷的质膜和壁的前缘在细胞中央相会，将细胞一分为二。

有性生物在形成配子时要进行减数分裂。减数分裂是由二倍体性母细胞在DNA复制之后连续进行2次细胞分裂使染色体数减半(1n)的过程。第一次分裂，同源染色体分开，染色体数比性母细胞的减少了一半；第二次分裂，染色体数不变，但姊妹染色单体分开，每一子细胞核中的DNA含量减少了一半。

减数分裂Ⅰ的前期Ⅰ进行的时间比较长，变化复杂，因而又可分为几个阶段：

(1)细线期：染色质凝缩成带有若干染色粒的线。

(2)偶线期：同源染色体进行配对和联会，同源染色体间形成联会复合体。合成少量的偶线期DNA。

(3)粗线期：同源染色体间的非姊妹染色单体发生交换和遗传重组。

(4)双线期：同源染色体发生分离，只靠一些交叉连在一起。

(5)终变期：染色体高度凝缩，交叉减少，只在同源染色体端部保留，核膜破裂，核仁消失。

在前中期Ⅰ，染色体向赤道面汇集。中期时以染色体端部排列在赤道面上，同源染色体的着丝粒则分居赤道两侧。后期Ⅰ中同源染色体分开，末期Ⅰ，核重建。减数分裂Ⅰ完成后，或进行细胞质分裂，或直接进入减数分裂Ⅱ。减数分裂Ⅱ类似于1次有丝分裂，在此过程中，每一染色体的姊妹染色单体分开，分别移向一极。末期Ⅱ时，核膜重新形成，染色体松展。随之进行细胞质分裂。减数分裂完成后，产生了4个单倍体细胞。

在细胞周期中细胞两次分裂之间的时期称为间期。间期是指由一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂开始的时期，在此期间细胞要进行活跃的生物合成和生长。根据DNA的合成变化又可将间期划分为G_1、S和G_2三个期。DNA在S期进行合成。从有丝分裂结束到S期开始为G_1期，从S期完成到下次有丝分裂开始为G_2期。G_1期中要合成能促进细胞进入S期的因子。各种细胞，进入G_1期所占的时间差别很大，快速分裂细胞的G_1期很短。有的细胞从G_1期暂时退出细胞周期，进入G_0期，处于静止状态。在S期中进行DNA合成，同时在细胞质中合成组蛋白。G_2期中合成了进行有丝分裂所需要的蛋白质和刺激因子。

细胞周期的变化要受许多因素的控制，抑素、cAMP、激素等都对细胞的分裂的速率有明显影响。

复习思考题

1. 说明减数分裂的意义和过程，前期Ⅰ都有哪些主要变化？
2. 减数分裂中同源染色体配对和联会都同哪些因素有关？
3. 动物、植物和细菌的细胞分裂方式有何不同？列表说明。
4. 说明细胞分裂后期染色体移向两极的机制。
5. 说明真核细胞分裂过程中核膜破裂和重新装配的调节机制。

6. 什么叫细胞周期?各阶段的主要变化是什么?
7. 细胞周期同步化的方法有哪些?
8. 掌握以下几个概念:偶线期 DNA、灯刷染色体、同源染色体、联会染色体、重组小结、有丝分裂器、有丝分裂指数、收缩环、G_0 期。

主要参考文献

郝　水,1982. 有丝分裂与减数分裂. 北京:高等教育出版社

李汝琪,1983,谈谈遗传学中若干基本问题,六、有丝分裂与减数分裂。遗传,4:1~5

邵　伟,1982.,细胞周期浅说. 细胞生物学杂志,3:44~49;40

Alberts, B. et al.,1994. Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc.,New York and London.

Avers, C. J.,1986. Molecular Cell Biology. Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts. 671~791

Berendes, H. D., 1973. Synthetic Activity of Polytene Chromosome. International Review of Cytology, 35: 61~116

Crossin, K. L. & Carney, D. H., 1981 Evidence That Microtubule Depolymerization Early in the Cell Cycle is Sufficient to Initiation DNA Synthesis, Cell, 23: 61~71

Elledge, S. J.,1998 Mitotic Arrest: Mad2 Prevents Sleepy from Walking up the APC. Science, 279: 999~1000

Elseth, G. D. & Baumgardner, K. D.,1984. Chromosome of Bacteria in: Genetics, Addisom-Wesley Publishing Company, Massechusets. 122~128

Fuge, H.,1977. Ultrastructure of the Mitotic Spindle. International Review of Cytology, Supplement 6, 1~58

Hwang, L. H., L. F. Lau & D. L. Smith *et al.*, 1998 Budding Yeast Cdc20: A Target of the Spindle Checkpoint. Science, 279: 1041~1044

Kim H., D. P. Lin, & S. Matsumoto, *et al.*, 1998. Fission Yeast Slpl: An Effector of the Mad2-dependent Spindle Checkpoint. Science, 279: 1045~1047

Penne, E.,1998. Cell Division Gatekeepers Identified. Science, 279: 477~478

Swanson, C. P. *et al.*, 1980 Cytogenetics, 200~233

Zachariae W., A. Shevchendo & P. D. Andrews, *et al.*, 1998 Mass Spectrometric Analysis of the Anaphase-Promoting Complex from Yeast: Identification of a Subunit Related to Cullins. Science, 279: 1216~1222

细胞分化

多细胞生物由受精卵开始发育生长，形成了由多种细胞构成的有机体，例如人类成体即是由200多种细胞组成。生物个体的这些细胞都是由同一个受精卵分裂而来，然而不同种类的细胞无论在形态结构上，还是生理功能上都有明显的差异。在个体发育过程中，后代细胞间在形态、结构和生理功能上发生差异的过程称为细胞分化(cell differentiation)。

在单细胞生物中，虽然没有像多细胞生物那种典型的细胞分化过程，但是在其生活周期中，细胞亦表现出有规律的形态结构和生理功能上的阶段性变化，这种变化亦具有细胞分化的性质。例如衣藻(*Chlamydomonas*)，在由合子到成熟细胞发育周期中，即具有明显的细胞分化变化(图16-1)。

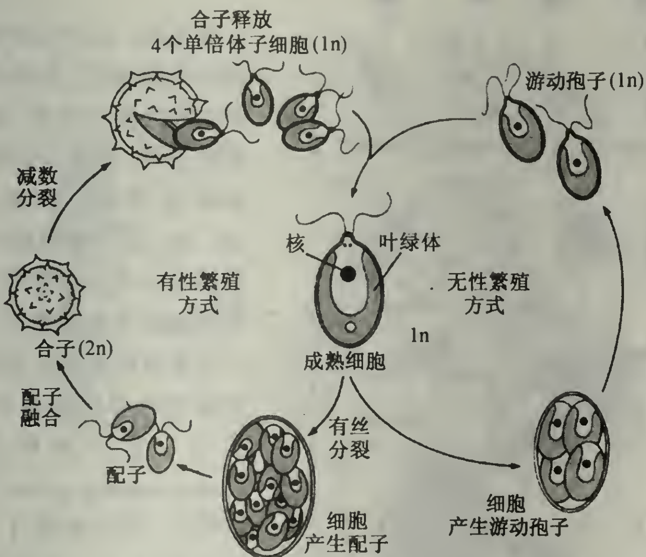


图16-1　单细胞原生生物衣藻(*Clamydomonas*)生活史中的细胞分化现象

衣藻具有有性和无性两种生活方式，在生活周期中主要以单倍体的形式存在，二倍体生活时期很短暂，只有合子阶段为二倍体。在有性生殖中，配子融合(受精)形成合子，再经减数分裂使染色体恢复到原先的单倍体形式。在无性生殖中，细胞通过有丝分裂产生游动孢子(1n)，进行繁殖(引自Avers, C. J. 1986)

第一节　细胞分化的特征

一、形态结构发生差异

各种细胞在直观上表现出大小、形状和结构上的差别（图 16-2）。这种差别一般与细胞的功能相适应。在多细胞生物中，大多数细胞以结合成组织和器官的形式存在，因而细胞的形状一般与其存在的部位和行使的功能有关。

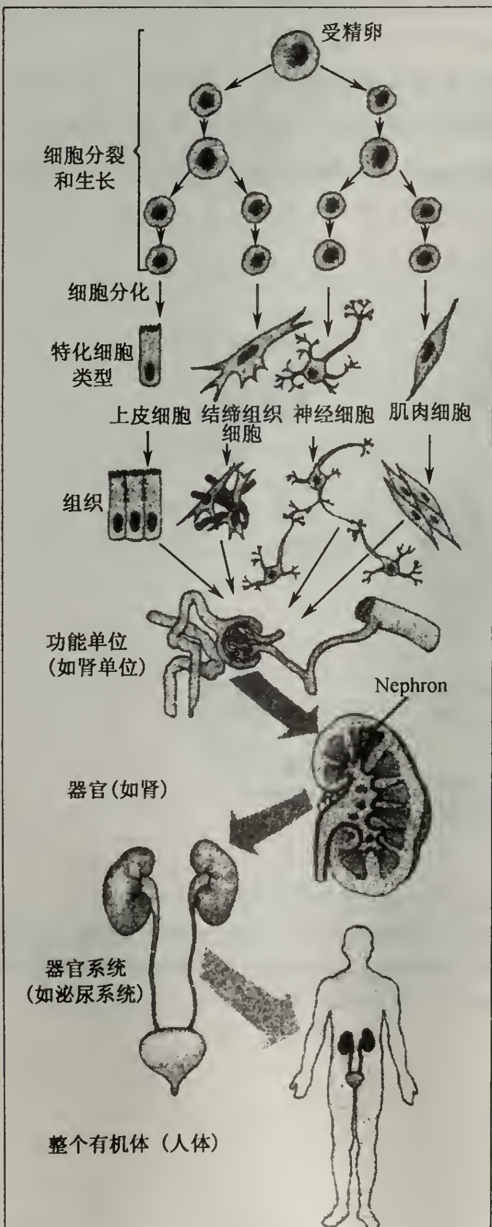


图 16－2　细胞经过分化产生多种多样细胞的过程示意图

二、差别基因表达

一般说来，体内各种细胞均含有物种的全部基因。但是在细胞中不是全部基因都在活动，通过分子杂交实验表明，在任何时间一种细胞的基因组只有一少部分基因在活动。单一序列基因进行表达的只占基因组中全部基因的 5% ~10%。这些表达的基因大致可分为两类：一类是维持细胞生存所必需的，这类基因在各种细胞中都处于活动状态，它们被称为持家基因(house-keeping genes)，例如为核糖体蛋白、线粒体蛋白、糖酵解酶编码的基因；另一类是在各种细胞中专一选择表达的，这类基因称为组织专一基因 (tissue-specific genes) 或奢侈基因 (luxury genes)，如血红蛋白基因、输卵管上皮的清蛋白基因、皮肤的角蛋白基因等。组织专一基因的表达，合成了组织专一蛋白产物，例如表皮的角蛋白基因表达，指导合成了表皮细胞特有的角蛋白。不同种类细胞的基因选择活动的现象称为差别基因表达 (differential gene expresion)。

三、细胞分化方向的限定早于形态差异的出现

在具有全能性的胚胎细胞和多能性干细胞水平上，细胞间没有表现出形态上的差异，可是这些细胞经多次分裂，所产生的子代细胞却限定向一定方向发育。因此，细胞在发生形态差异之前的一定时间，细胞分化命运即已确定。细胞从分化命运确定到出现特定的形态的过程称为细胞决定（cell determination）。细胞决定即意味着细胞内部已发生了稳定的变化，基因活动模式已开始发生改变。细胞决定是一种渐变的过程，例如在胚胎早期先有外、中、内三胚层的发生，然而在细胞形状上并无什么差别。但是各个胚层却预定要分化出一定的组织，例如中胚层将分化出肌细胞、软骨细胞、骨细胞和结缔组织的成纤维细胞。又如果蝇成虫盘（imaginal disc）的分化是在形态发生差异前即已发生细胞决定的良好例证。成虫盘是果蝇胚胎表皮在一定部位内陷形成的一些未分化的细胞群，在幼虫阶段这些细胞群无明显形态差异，可是在变态过程中，不同部位的细胞群分别向着一定方向分化，形成了腿、翅和触角等器官（图 16－3）。这说明在分化出这些器官之前，成虫盘的分化命运即已限定。实验还证明，这种限定是稳定的和可遗传的。

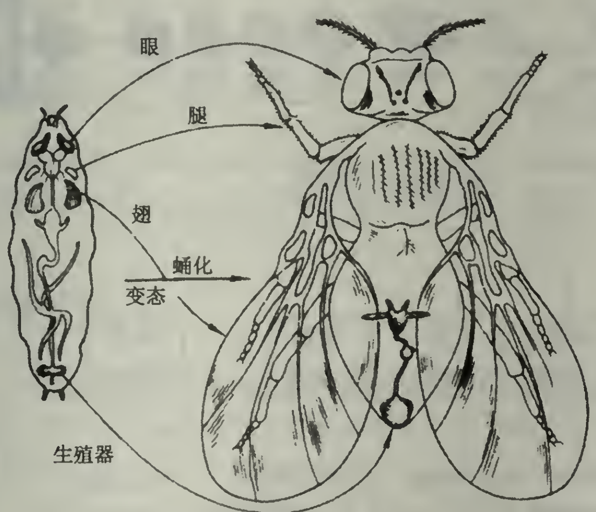


图 16－3　果蝇成虫盘的定位和其分化成的相应的成虫器官
（引自 Markert & Ursprung　1971）

四、分化细胞的表型保持稳定

动物细胞发生分化之后，其遗传表型保持稳定，而且是不可逆的。例如，人的血细胞的分化起始于多能造血干细胞。造血干细胞是几种血细胞的前体细胞，它先分化为单能干细胞，再由单能干细胞分化成不同的血细胞。如红细胞系要经过原红细胞、早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞几个阶段，最后分化成红细胞。在早幼红细胞阶段开始合成血红蛋白，至晚幼红细胞阶段合成完毕。哺乳动物红细胞系在晚幼红细胞阶段排除细胞核，成为成熟的红细胞（图 16－4）。

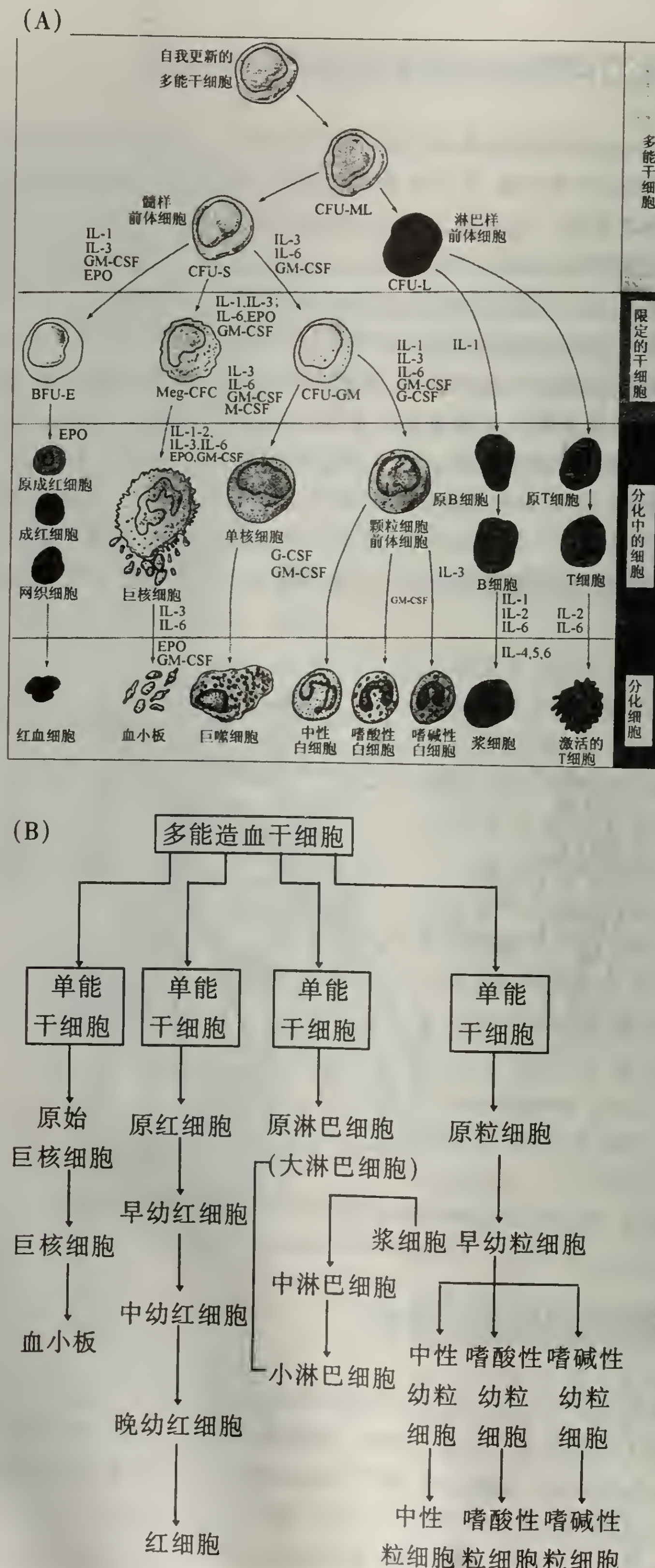


图 16－4　哺乳动物血细胞和淋巴细胞的来源和分化(自 Gibert, S. F.　1994)

(A)各种血细胞的分化来源;(B)各种血细胞的分化阶段,图中的生长因子代表见下表

图 16－4 的注释附表：造血生长因子和靶细胞

缩写代称	全　称	发生反应的造血细胞
Epo	红细胞生成素(erythropoietin)	红细胞样细胞、巨核细胞
G-CSF	颗粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor)	颗粒细胞、巨噬细胞
M-CSF(CSF-1)	巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony stimulating factor)	巨噬细胞、颗粒细胞
GM-CSF	颗粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor)	颗粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性白细胞、巨核细胞、红细胞样细胞
IL-1	白细胞介素 1(interleukin 1)	T 淋巴细胞、干细胞
IL-2	白细胞介素 2(interleukin 2)	T 和 B 淋巴细胞
IL-3(多能 CSF)	白细胞介素 3(interleukin 3)(多能集落刺激因子)	颗粒细胞、巨噬细胞、嗜酸性白细胞、巨核细胞、干细胞、肥大细胞
IL-4	白细胞介素 4(interleukin 4)	T 和 B 淋巴细胞、颗粒细胞、巨噬细胞、肥大细胞
IL-5	白细胞介素 5(interleukin 5)	嗜酸性白细胞、B 淋巴细胞
IL-6	白细胞介素 6(interleukin 6)	B 淋巴细胞、颗粒细胞、巨核细胞、干细胞、破骨细胞
IL-7	白细胞介素 7(interleukin 7)	B 和 T 淋巴细胞
Meg-CSF	巨核细胞集落刺激因子(megakaryocyte colony stimulating factor)	巨核细胞
SCF	干细胞因子(stem cell factor)	干细胞、肥大细胞、颗粒细胞、中性白细胞、巨核细胞
LIF	白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor)	巨核细胞
MIP-1α	巨噬细胞炎症蛋白 α(macrophage inflammatory protein α)	干细胞

五、去分化与转分化

一般说来，分化细胞的表型要保持稳定，以执行特定的功能。然而在某些条件下，分化细胞也不稳定，其基因活动模式可发生可逆的变化，又回到未分化状态，如在培养条件下的植物愈伤组织。这一变化过程称为去分化(dedifferentiation)。去分化的细胞失去了分化的特征。植物愈伤组织具有全能性，可再生出完整的植株。有的细胞在发生去分化之后，可再分化成另一种细胞，这一现象称为转分化(transdifferentiation)。例如，蝾螈肢体再生时，脱分化的肌细胞可生出软骨。

六、细胞的生理状态随分化程度而有所不同

成体中的细胞，分化程度有所不同。随着分化程度的提高，细胞的生理活动发生了明显的变化。例如细胞的分裂能力随分化程度的提高而有所下降，高度分化的细胞往往不再分裂，如神经细胞、成熟红细胞、表皮细胞等。因此，细胞的有丝分裂指数，可反映出细胞的分化程度，二者之间成反比关系。此外，细胞对环境因子的反应性也随分化程度的提高而降低。例如，各种组织对电离辐射的敏感性有明显差异，分化程度高的肌细胞和神经细胞对电离辐射的敏感性很低，而分化程度低的生殖细胞对电离辐射具有很高的敏感性。

第二节　细胞发育潜能的变化

细胞分化能力的强弱称为发育潜能(developmental potential)。受精卵具有分化出各种组织和细胞的潜能,并能发育成完整的个体。细胞具有发育成完整个体的潜能称为全能性(totipotency)。高等动物除受精卵外,第一次卵裂后产生的两个裂球(细胞)也具有全能性。可是随着胚胎的发育,有的体细胞虽然具有分化出多种组织的潜能,但却失去了发育成完整个体的潜能,细胞具有的这种发育潜能则称为多能性(pluripotency)。例如,哺乳动物囊胚的原始外胚层细胞即具有分化出包括生殖细胞在内的各种组织的多能性。在成体中,有些干细胞能分化出几种细胞,如多能造血干细胞可分化出红细胞、白细胞、单核细胞和血小板,故造血干细胞具有多能性。但是,造血干细胞却不能分化出造血系统以外的其他细胞了。多能造血干细胞分化成终末功能细胞,尚要经过一中间干细胞,此种干细胞只能分化出一种血细胞,故为单能干细胞,其分化潜能称为单能性(monopotency)(见图 16-4)。由此可见,在发育过程中,细胞的发育潜能逐渐变窄。在上一世纪,学者们即已注意到细胞分化潜能的变化现象,然而经过了近一个世纪的研究,才对细胞分化潜能变化的机制有了较全面的认识。

一、遗传物质丢失观点的提出

最早试图对细胞分化机制作出解释的学者是 Weismann(1883),他根据当时对马蛔虫(*Ascaris megalocephala*)的研究结果,提出了“体细胞分化是由于遗传物质丢失造成的,每一种组织只保留了其特有的遗传物质”的见解。他主张,染色体不丢失的细胞成为生殖细胞,发生丢失的细胞成为体细胞。到终末分化阶段,一种组织只保存了自身所特有的遗传物质,其他所有遗传物质均丢失,他把这种物质称为决定子(determinants)。在马蛔虫这一特例中,在卵裂过程中体细胞的染色体确实发生丢失现象,此现象称为染色体消减(chromosome diminution)(图 16-5)。Weismann 的这一观点在当时看来既符合逻辑,又有实际例证,因而被学术界所普遍接受,而且此种观点后来一直流行了 50 余年。

二、高度分化的植物体细胞仍具有全能性

在发育潜能上植物细胞不同于动物细胞,高度分化的植物营养组织仍保持着发育成完整植株的能力,也就是说仍具有全能性。其实,植物组织具有全能性早已是众所周知的事实,并将植物的这一性能运用到生产实践中,例如用马铃薯的块根和番薯的块茎进行栽培繁殖,即是最典型的实例。但是真正用科学试验的方法证明植物的组织和体细胞具有全能性,则是 20 世纪 50 年代的事了。

1958 年 Steward 等利用胡萝卜根的韧皮部组织培养出了完整的新植株。后来,Visil 和 Hildebandt 又用组织培养法使烟草的单个细胞长成了可育的完整植株。1969 年 Nitch 将烟草的单个单倍体孢子培养成了完整的单倍体植株。1970 年 Steward 用悬浮培养的胡萝卜单个细胞培养成了可育的植株(图 16-6)。这些实验有力地证明了:①高度分化的植物细胞,遗传物质并没有发生丢失,从而彻底推翻了 Weismann 关于

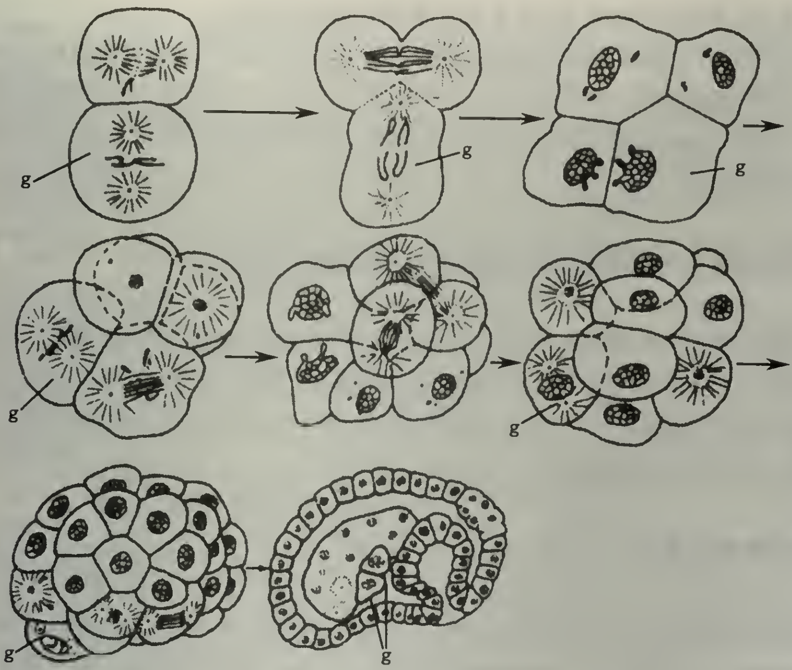


图 16－5　马蛔虫在胚胎发育过程中体细胞发生染色体消减现象示意图

在卵裂过程中除原始生殖细胞(g)保留了完整的两条染色体外，其他细胞的染色体均发生大段丢失

“细胞分化是由于遗传物质丢失的结果”的观点；②在二倍体染色体组中，只要有一套

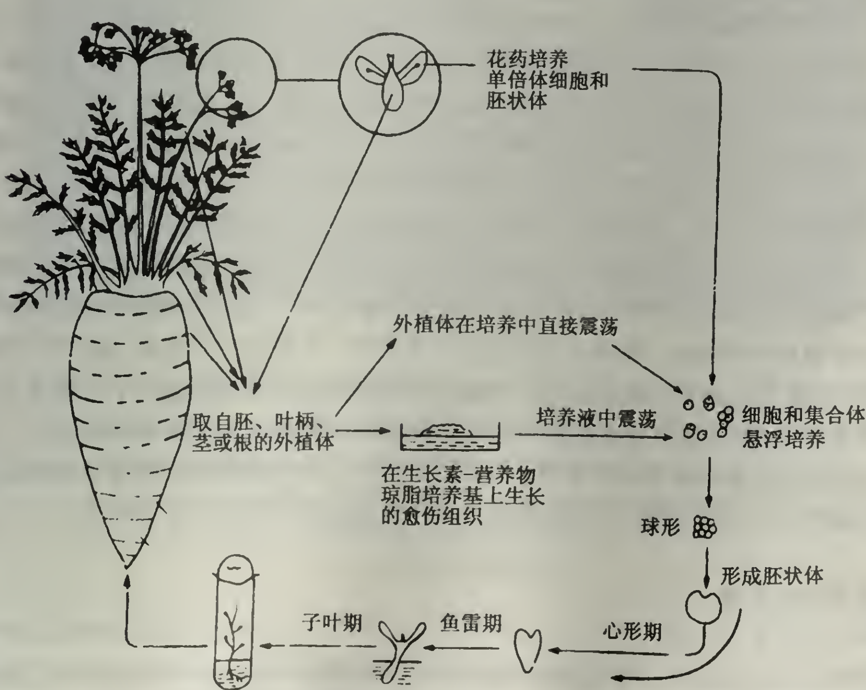


图 16－6　用植物体细胞培养产生完整植株示意图

同源染色体(单倍体)的基因组,即含有该物种的全部基因。

上面所介绍的实验结果都是得自植物组织,但是不能推论到动物组织,特别是不能运用到高等动物组织。高等动物在个体发育中,产生了体细胞和生殖细胞两个独立的细胞系(cell linages),体细胞便失去了全能性。动物体细胞全能性的丧失并不意味着遗传物质的丢失。

三、动物高度分化细胞的细胞核仍保持全能性

动物细胞的分化潜能随着分化程度的提高而逐渐变窄,这种分化潜能的变化是指细胞整体而言。可是对细胞核来说则是另一种情况,高度分化的细胞仍保留着物种的全套基因,并没有因细胞分化而丢失基因(线虫例外),因此高度分化的细胞仍保持着全能性,这已被许多实验所证实。

(一)细胞核移植实验

细胞核移植实验是研究核质关系的的重要手段。此种实验首先是在体积较大的两栖类卵中获得成功的。1952 年,Briggs 和 King 将豹蛙(*Rana pipiens*)囊胚的细胞核移入去核的卵母细胞中,结果这一核质杂交体发育成了蝌蚪。1975 年,Gurdon 用爪蟾(*Xenopus*)蝌蚪的肠上皮细胞的核和角质化的皮肤细胞的核进行移核实验;Whabl 则用淋巴细胞的核进行类似的实验,他们都证明去核卵移入体细胞核后能够发育成蝌蚪,甚至有少数几例经变态发育成为可育的成体(图 16-7)。1978 年,童第周等将黑斑蛙成体红细胞的核移入未受精的去核卵内,卵子亦发育成正常的蝌蚪。

哺乳动物的卵体积很小,直径约在 80~150μm 之间(小鼠~80μm;兔~125μm;牛~140μm;人~100μm),比两栖类的卵小得多,进行移核实验比较困难,必须借助于显微操作装置才能进行。1981 年,Illmensee 和 Hoppe 首次用小鼠卵进行移核实验获得成功。他们是用显微注入法将囊胚的内细胞团细胞的核移入去核的受精卵中,移核卵经培养发育为囊胚时,再将胚胎移入同步孕鼠的子宫中,结果生出了仔鼠,并发育成了可育个体(图 16-8)。后来许多学者将移核技术加以改进,亦获得了相同的结果。

在 20 世纪 90 年代中期以前,哺乳动物移核实验所用的细胞核均取自胚胎细胞或胚胎干细胞(ES cell)。1997 年,Wilmut 等用怀孕最后 3 个月的 6 龄母羊的乳腺细胞核移入去核的卵母细胞中,再植入母羊的子宫中孕育,结果生出了羊羔,起名叫“Dolly”(一位乡村歌手的名字)(图 16-9)。Dolly 长到成年后,自然交配生出了几窝小羊。此后不少学者又用小鼠、牛等哺乳动物的体细胞核进行移核实验也获得了成功。

由此可见,动物移核实验证明,不仅已分化的胚胎细胞的核具有指导卵质杂交体发育为成熟个体的全能性,而且高度分化的体细胞的核也具有发育全能性。

(二)分子杂交实验

移核实验已经间接证明,胚胎细胞和高度分化细胞的细胞核都含有指导发育为完整个体的物种全部基因。但是这一结论的直接证据则是来自分子竞争杂交实验。McCarthy 和 Hoyer(1964)把从小鼠脑、肾、胸腺、脾、肝组织提取的 DNA,分别与 L 细胞

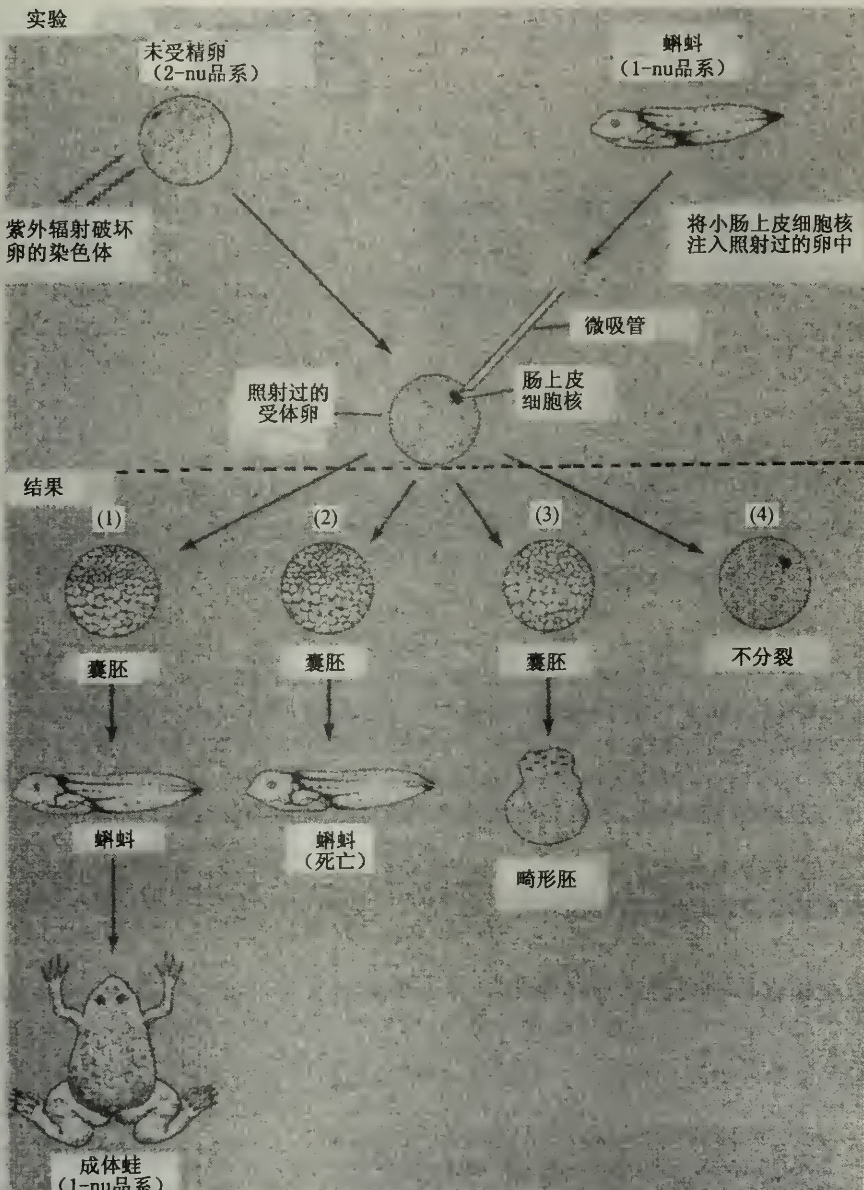


图 16－7　爪蟾卵移核实验的操作步骤和实验结果图解

将蝌蚪小肠上皮细胞或角质细胞的核移入去核或用射线破坏了染色体的卵中，移核卵可发育成蝌蚪，个别可变态为成体。图中 nu 为核仁，1nu 和 2nu 分别代表含有 1 个核仁和 2 个核仁的爪蟾品系，1nu 的核移进 2nu 的去核卵中，发育成的爪蟾为 1nu 品系的特征

(1)～(4)代表 4 种实验结果

(一种小鼠肿瘤细胞系) DNA(标记 ^{14}C) 共同对小鼠胚胎 DNA 进行竞争杂交，结果表明，来自各种组织的 DNA 的竞争结合率和结合量都一样。但是如果用枯草杆菌(*Bacterieae subtilis*) DNA 同小鼠胚胎细胞 DNA 杂交，则二者不结合，说明二者之间无共同的 DNA 序列(图 16－10)。

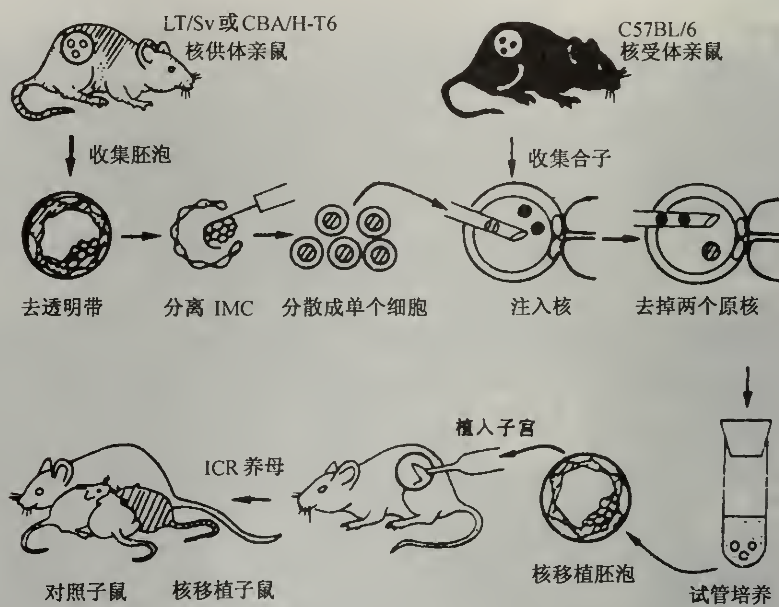


图 16－8　小鼠核移植实验图解

收集 LT/Sv 或 CBA/H-T6(棕色毛）纯系雌鼠交配后 4 天的胚泡，用微吸管吸取内细胞团细胞的核，注入 C57BL/6(黑色毛)受精卵中，随即将雌雄两个原核吸出。将移核卵体外培养至囊胚，然后再和 ICR/Swiss 或 BALB/C(白毛)纯系小鼠的对照胚胎一起植入到 ICR/Swiss 假孕母鼠子宫中孕育，对生下来的 3 只小鼠(两雌一雄)进行染色体和生化分析表明，在毛色、核型和葡萄糖磷酸同工酶(GPI)等方面均各为核供体表型，交配后生出的第二代小鼠仍为核供体遗传表型(引自 Illmensee & Hoppe 1981)

(三)细胞融合启动核基因的表达

细胞融合技术可以检验细胞中不表达的基因是否仍存在和是否仍保持表达活性。Weiss 等(1975)用细胞融合实验证明，分化细胞中存在着“闲置不用”的结构基因。他们把大鼠的肝肿瘤细胞同小鼠的成纤维细胞融合，筛选出含有两套肝细胞染色体和一套成纤维细胞染色体的杂交细胞。经分析，这些杂交细胞既保持了继续合成大鼠肝细胞特有蛋白质的能力，如合成白蛋白、醛缩酶（aldolase）和酪氨酸转氨酶（tyrosine aminotransferase, TAT)，同时也合成小鼠的这三种蛋白质。在正常情况下，成纤维细胞从不合成这三种蛋白质。这说明，小鼠成纤维细胞中的确仍存在着不表达的而却在肝细胞中专一表达的基因。在



图 16－9　模殖(克隆)羊 Dolly 和为其代孕的苏格兰黑面母羊
发育为 Dolly 的核质杂交体的核取自体外培养了 3～6 代的乳腺细胞；图中示 Dolly 和其代孕母 Finn Dorset 母羊(Roslin Institute 赠　2000)

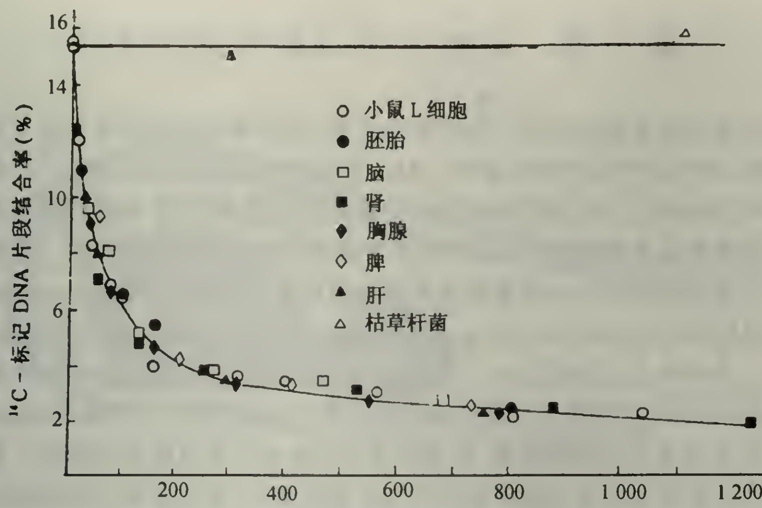


图 16-10 小鼠各种组织的 DNA 同小鼠胚胎细胞培养物的 ^{14}C 标记 DNA 的竞争杂交实验结果
随着各种组织 DNA 量的增加，^{14}C 标记 DNA 的结合量(%)(纵坐标)都相应一致减少，说明各种组织中的 DNA 序列无差异(引自 McCarthy & Hoyer 1964)

特定的条件下(融合进了肝细胞质)，这些"闲置基因"又重新启动表达。

上述从分子到细胞的各种例证都证明，虽然各种体细胞随着分化程度的提高，其发育潜能有所变窄，每一种细胞只有一小部分基因表达，合成该种细胞所专有的一组 RNA 和蛋白质，但是各种细胞中的基因组是等值的。也就是说，分化细胞中不表达的基因仍然存在，保持着重新启动表达的潜能。

* * *

上面我们介绍动物的受精卵和最初几次卵裂产生的裂球，以及植物的体细胞，都具有发育成完整个体的潜能，细胞的这种潜能称为全能性。高度分化的动物细胞，虽然失去了发育成完整个体的能力，但是细胞核的基因组仍保持完整，具有指导移核卵发育成完整个体的能力，因此核具有全能性。在这里需要说明的是，细胞的全能性与核的全能性不能混为一谈。也就是说，核的全能性并不代表细胞具有全能性，细胞在分化过程中逐步失去了全能性。

分化细胞的核具有全能性，是针对基因组而言。不能认为，细胞在分裂和分化过程中遗传物质和核结构仍保持完整不变。在个体正常发育过程中，细胞逐渐衰老（凋亡）。细胞衰老除了细胞质的因素外，与核的衰老直接相关。现已发现，细胞随着分裂次数的增加，染色体的端粒序列在逐渐缩短。端粒的长短与细胞的寿命具有相关性。据最近报道(1999)，上面所提到的克隆(模殖)羊 Dolly，其细胞中的端粒序列比正常的同龄羊短了 20%，因此 Dolly 的寿命可能要比正常羊短(15~20 年)。细胞在不断分裂过程中，除了端粒以外，染色体和核质的结构可能还会有其他的衰老变化，我们暂把其统称为核衰老(nuclear aging)。有关问题将在细胞凋亡一章中进行讨论。

第三节　细胞分化与差别基因表达

分化细胞不仅表现出具有一定的形态特征，而且最主要的还是合成了细胞专一性的蛋白质组，表现出特定的遗传表型。因此，在任何时候基因组中只是一小部分基因在活动。前面已经说过，分化细胞的核仍含有物种的全部基因，那么各种细胞调控基因有秩序表达的机制是怎样的呢？这必然是弄清细胞分化机制的关键所在。各种细胞各有特定的一组基因进行表达的现象称为差别基因表达（differential gene expression）或组织专一性基因表达(tissue-specific gene expression)。从前面的介绍我们知道，在个体发育过程中，并没有发生基因丢失，也就是说分化细胞的细胞核含有物种整套的基因组。那么，分化细胞为什么会有差别基因表达呢？这就涉及到一些基因(组织专一性基因)开启，而其他基因关闭的机制，即基因表达在细胞分化过程中的调控。真核生物中差别基因表达要在基因表达链的各个环节上受到调节，最后表现为合成组织专一性蛋白质。细胞分化过程是一种有序的渐变连锁过程，大多要涉及到一个基因系列的连锁激活，不能看作是单一基因的活动结果。

一、细胞分化的转录调节

(一)转录调控的一般原理

基因的组成可分为两个区域，一个是编码区（coding regions），另一个是调控区(control regions)。调控区中包括有启动子(promoters)和增强子(enhancers)序列。调控区在调节组织专一性基因表达方面具有重要作用。例如，小鼠的弹性蛋白酶(elastase)只在胰腺中合成；而生长激素只在脑垂体中合成。如果把小鼠的弹性蛋白基因的调控区与人的生长激素基因的编码区相连，然后将这一构建基因导入小鼠受精卵的细胞核中，并与基因组整合。结果发现，在转基因小鼠胚胎的胰腺中合成了人生长激素。这说明，启动子在控制组织专一性基因表达方面起了决定性的作用。同样的实验也证明，增强子在指导组织专一性基因表达方面也具有类似的作用。例如胰岛素只在胰岛细胞中合成，如果把胰岛素基因的增强子连同启动子一起与其他基因的编码区重组，则可指导其他任一基因的编码区在胰岛的 β 细胞中表达。

在真核细胞中，为蛋白质编码的基因是由 RNA 聚合酶 II 进行转录。RNA 聚合酶 II 在启动子位点上与 TATA 框结合，并与几种普通(非组织专一性的)转录因子(general transcription factors）组合成转录起始复合物（transcription initiation complex），启动转录。然而对于组织专一性调控来说，转录起始复合物除了有普通转录因子外，还需要有另外一些基因调节蛋白参加，这些蛋白质与 DNA 的某些位点结合，共同控制基因的专一活动。这些位点有的在启动区的 TATA 框附近，大多数为蛋白质编码的基因都在同样位置上具有这种调节位点。但是增强子的类型和位置在不同基因中有很大的差异。增强子位点上一旦结合上调节蛋白，则可使起始转录的概率提高几百倍。由于 DNA 链可折屈成袢，故增强子在空间位置上可接近启动子，于是结合在增强子上的调节蛋白可与结合在启动子上的调节蛋白相接触，形成了可高效启动转录的转录起始复合物(图 16－11)。

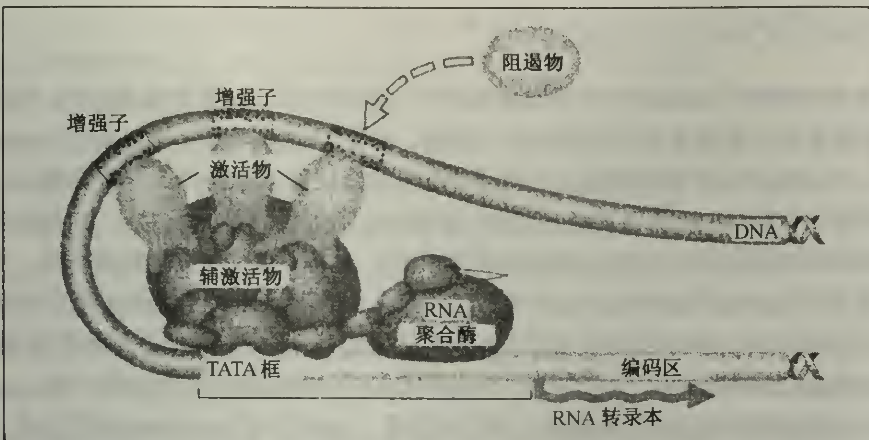


图 16－11　转录起始复合物启动基因转录的结构示意图

由 RNA 聚合酶和普通转录因子构成的复合物同启动子结合，这种方式在各种细胞中具有普遍性；另一些基因调节蛋白（激活物或阻遏物）可同其他调节位点结合，进行专一性调节

由此可见，真核细胞中同基因调控区相互作用的转录调节物可分为两类：一类存在于多种细胞中，许多基因转录都需要的调节物；另一类是在特定组织中的一个或一组基因专一表达所需要的调节物，只存在于特定种类的细胞中。

基因转录调节物被激活后才发挥作用，细胞外信号对激活调节物起着关键作用，因而细胞外信号影响着细胞的基因表达模式。细胞外信号分子与细胞中的专一受体相互作用，引起细胞反应。类固醇激素类信号分子的受体存在于细胞质中，信号分子穿膜进入细胞，与受体结合，并使之激活。配体－受体复合物进入细胞核，与基因的调控位点结合，激活转录。因此，受体本身即起转录因子的作用。蛋白质类信号分子的受体存在于质膜上，信号分子与受体结合后，分子不进入细胞内部，而是通过细胞内的信号传递途径，激活转录因子，启动基因转录（图 16－12）。关于细胞信号转导的机制可参见“第十三章”。

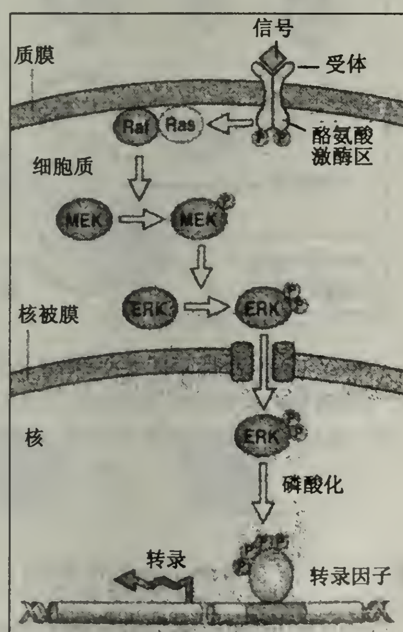


图 16－12　蛋白质性的细胞外信号分子与膜受体结合后通过细胞内信号传递途径影响基因表达示意图

受体的细胞质区具有酪氨酸蛋白激酶活性，受体同配体结合后，发生磷酸化，磷酸化的受体再激活 GTP 结合蛋白 Ras 和 Raf，后者再激活蛋白激酶 MEK，MEK 再激活另一种蛋白激酶 ERK，磷酸化的 ERK 进入细胞核，在核内 ERK 激活一种转录因子（磷酸化），从而影响基因表达

（二）细胞分化的几种转录调控模式

不同的细胞分化在转录调控方式上有所不同，下面介绍几种研究得比较清楚

的例子。

1. 基因连锁激活组织专一性基因转录

脊椎动物特化的横纹肌细胞合成肌肉专一性蛋白质，包括有肌动蛋白、肌球蛋白II、原肌球蛋白等收缩蛋白和肌肉专一性酶，如磷酸肌酸激酶（creatine phosphate kinase）。肌细胞是由中胚层细胞分化而来。中胚层成肌前体细胞在成纤维细胞生长因子的诱导下，引起 *myoD* 基因表达。*MyoD* 基因是生肌基因家族成员之一，它是肌肉分化的关键调控基因，它一旦表达，即会导致肌肉专一基因的激活，引起肌肉分化。在生肌基因家族中，*MyoD*(鸟类)或 *myf-5*(哺乳类)是首先在肌肉前体细胞中被打开的基因。它们在分裂增生的成肌细胞中表达，这时成肌细胞不分化。在受到另外的信号刺激时，成肌细胞退出细胞周期，停止分裂。myoD 蛋白和 myf-5 蛋白激活 *MRF4* 和 *myogenin* 基因，成肌细胞开始分化，细胞相互融合成肌管。*MRF4* 和 *myogenin* 基因又进一步激活了肌肉专一基因的表达，肌管分化为成熟的横纹肌纤维(图 16－13)。由此可见，肌肉的分化成熟是由生肌基因家族先后被连锁激活的过程。

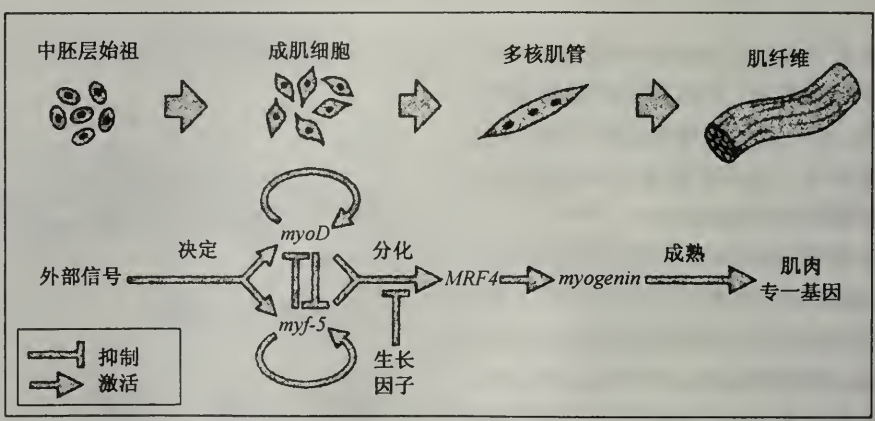


图 16－13　脊椎动物骨骼肌分化与生肌基因家族连锁开启表达关系示意图

外部信号激活 *MyoD* 和 *myf-5* 基因，起动肌肉分化。*MyoD* 和 *myf-5* 基因活性具有相互抑制作用，在不同类动物中的表达优势有所不同，而且其活性可自我维持。它们进一步激活 *MRF4* 和 *myogenin* 基因，后者进而激活肌肉专一基因的表达

2. 转录因子组合对细胞分化的调节

从上面介绍的肌细胞分化一例可以看出，虽然肌细胞的分化要涉及到几个基因的连锁激活，但是 *myoD* 基因家族中只是一个成员激活即可启动肌细胞的分化。总的看来，这种调节方式比较简单，而其他有的调节方式则比较复杂。例如在肝细胞分化过程中，组织专一性转录因子 HNF-4 的激活可转而激活 HNF-1α 转录因子，后者随之又激活肝专一蛋白基因，如白蛋白基因和 β 血纤蛋白原(β-fibrinogen)基因。HNF-1α 蛋白含有多个结合部位，既同与基因激活所必须的 HNF-4 因子结合，也要同其他一些转录因子结合，其中包括通用(非专一性)转录因子 Fos 和 Jun，以及 HNF-3。

然而值得注意的是，HNF-1α 转录因子在肾细胞中也有表达，而其他一些转录因子在不同组织中也有表达，如脑和肠道组织。那么，为什么 HNF-1α 没有在肾细胞中启

动肝专一基因表达呢？这就涉及到转录因子组织专一性组合，不同的组织各有特有的组合方式，从而分别启动为组织专一性蛋白编码基因的表达。这样，虽然在不同组织中存在相同的转录因子，但由于组合不同，导致分化为不同的细胞。

由几种基因调节蛋白以不同的组合调节不同的专一基因表达，从而产生不同的细胞分化，这种调节方式称为组合调控(combinatorial control)。虽然某一种关键性的基因调节蛋白可诱导细胞向一定方向分化，但是这种关键性的基因调节蛋白往往还要配合以其他的调节蛋白才能发挥作用。例如，前面我们提到的 MyoD 蛋白可诱导肌细胞分化。有实验表明，如果将 MyoD 蛋白导入体外培养的皮肤结缔组织中的成纤维细胞，则成纤维细胞可发生成肌细胞一样的变化，也可相互融合成肌细胞样的细胞。这说明在成纤维细胞中已经积累了肌肉专一基因表达所需的一些基因调节蛋白，但是“万事俱备，只欠东风”，只有添加上 MyoD 蛋白，才组成了指导细胞分化为肌肉的完整专一组合。另外的实验还证明，MyoD 蛋白并不能使其他类型的细胞分化成肌肉，因为这些细胞在发育过程中，没有积累起 MyoD 以外的那一套基因调节蛋白。然而，在发生来源上，成纤维细胞与成肌细胞属于一大类。基因调节蛋白组合是在发育过程中逐渐积累起来的，因而细胞分化也是一个有顺序的渐变过程(图 16 - 14)。

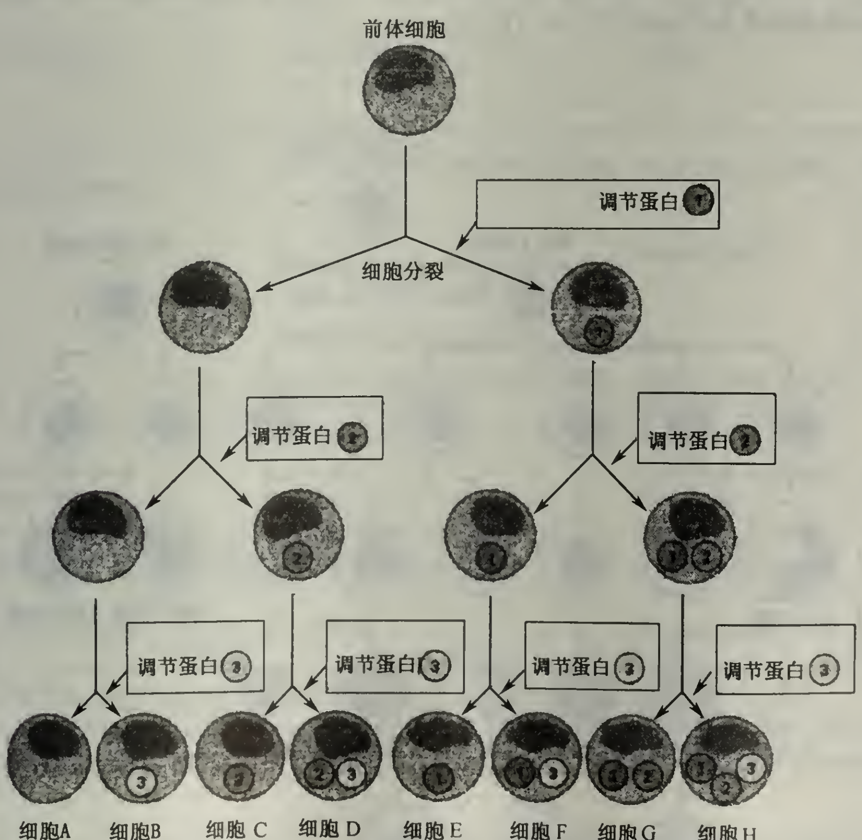


图 16 - 14　基因表达的组合调控分化出不同的细胞类型

有限的几种基因调节蛋白，以不同的组合指导多种细胞的分化。不同组合的基因调节蛋白可调节不同基因的专一表达

3. 造血系统细胞分化的等级调节模式

成体哺乳动物的血细胞都来源于骨髓中的多能造血干细胞(stem cell)。多能干细胞具有自我更新的能力。在发育的很早阶段,有些干细胞的子代细胞即成为两种造血系统的前体细胞。这些前体细胞也是多能性的，最初未被限定，它们快速扩增分裂几次,最后一次分别被限定为两个造血系统,即髓样干细胞(myeloid stem cells)系统和淋巴样干细胞 (lymphoid stem cells) 系统。哺乳动物终末分化的血细胞共有 8 个细胞谱系,其中包括两个谱系是处于不同分化阶段的未成熟细胞。髓样谱系中包括红细胞和 5 种白细胞，5 种白细胞为三种颗粒白细胞：嗜曙红细胞 (eosinphils)、嗜中性细胞 (neutrophils) 和嗜碱性细胞 (basophils)，以及单核细胞 (monocytes) 和巨核细胞 (megakaryocytes)，后者产生血小板。淋巴样谱系包括两种抗原专一细胞，即 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞。受抗原刺激后,B 细胞分化成分泌抗体的浆细胞(plasma cells);T 细胞则至少分化为 3 种功能细胞：细胞毒 T 细胞 (cytoxic T cells)、辅助 T 细胞 (helper T cells)和抑制 T 细胞(suppressor T cells)。由此可见,各种血细胞是由多能造血干细胞经多级分裂和分化而来，因而造血系统可看作是一个等级系统 (hierarchical system)，最顶级的是多能造血干细胞(图 16－15)。

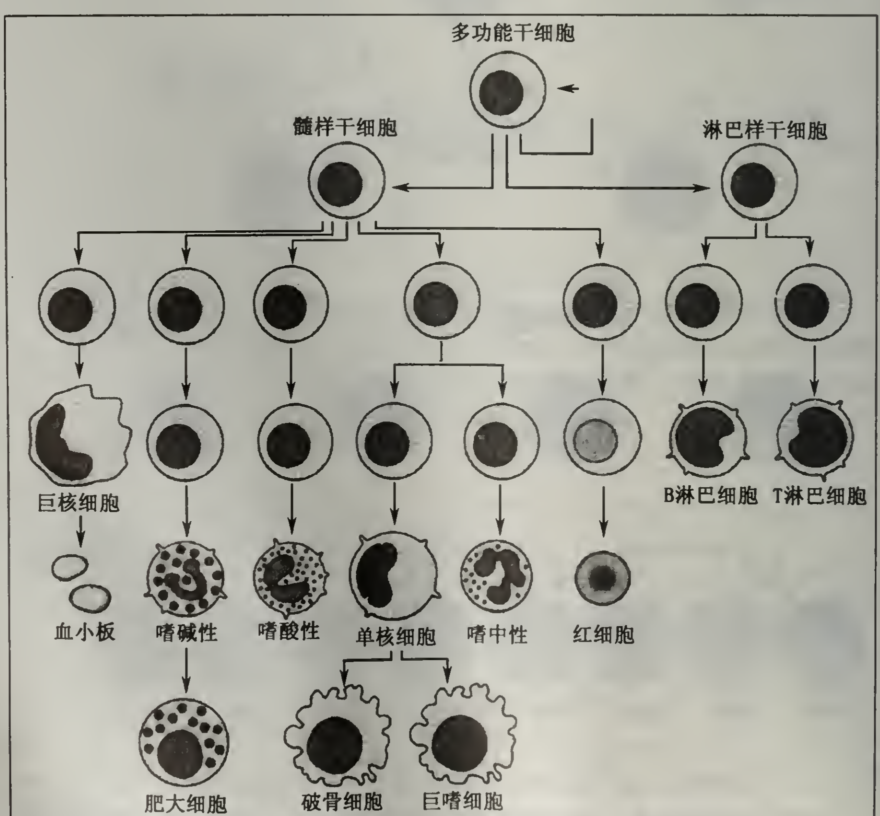


图 16－15　多能造血干细胞产生 8 种血细胞的分化过程示意图

多能干细胞可自我更新,它首先限定产生髓样(myeloid)和淋巴样(lymphoid)两个谱系,随后产生了 8 个细胞谱系

(1)集落刺激因子对血细胞分化的影响:骨髓中的干细胞都是混杂在一起的,在造血过程中,各个细胞谱系的转录因子的表达呈等级模式。有的转录因子在不成熟的细胞中表达,无谱系专一性,如原癌基因 *c-Myb* 的编码产物。而另一些因子具有谱系专一性,例如转录因子 GATA-2 存在于所有髓样前体细胞中,而在淋巴样系统的前体细胞中不存在。转录因子 GATA-1 则更加专一,只存在于某些髓样细胞谱系中,对红细胞的分化起调节作用。此外,NF-E2 也是红细胞分化的关键转录因子。多能干细胞的后代细胞的限定(commitment)和分化方向受各个细胞所处的微环境的影响。微环境中含有许多种糖蛋白性的细胞外因子,它们对转录因子的表达起信号作用,从而影响着细胞的生长和分化。在造血细胞分化培养实验中已发现了 20 余种生血生长因子(hematopoietic growth factors),总称为集落刺激因子(colony stimulating factors,CSF)(在体外实验中,因可刺激一个生血细胞形成集落而得名)。CSF 在生血过程中,分别在某一关节点上影响细胞的增生和分化(表 16-1)。如红细胞生成素(erythropoietin, EPO; hemopoietin; hematopoietin)即可引起限定了的红细胞前体细胞的分化。

表 16-1 造血系统中影响细胞分化的几种集落刺激因子

因子名称	分子大小(Da)	靶细胞	来 源	受 体
红细胞生成素(EPO)	51	红细胞祖细胞	肾细胞	细胞因子受体家族
IL-1		T 细胞、干细胞		
IL-2		T 和 B 淋巴细胞		
IL-3(Multi-CSF)(多能集落刺激因子)	25	多能干细胞、多数祖细胞、终末分化细胞	T 淋巴细胞、上皮细胞	细胞因子受体家族
IL-4	20	粒细胞、巨噬细胞、嗜曙红白细胞、巨核细胞、肥大细胞、干细胞	某些助 T 细胞	
IL-5	20	嗜曙红白细胞、B 淋巴细胞	同 IL-4	
IL-6	25	B 淋巴细胞、粒细胞、巨噬细胞、干细胞、破骨细胞、单核细胞	某些助 T 细胞、巨噬细胞	
IL-7	25	B 和 T 淋巴细胞	同 IL-2	
粒细胞/巨噬细胞 CSF(GM-CSF)	23	GM 祖细胞	T 淋巴细胞、内皮细胞、成纤维细胞	细胞因子受体家族
粒细胞 CSF(G-CSF)	25	GM 祖细胞和嗜中性白细胞	巨噬细胞、成纤维细胞	细胞因子受体家族
巨噬细胞 CSF(M-CSF)	70(二聚体)	GM 祖细胞和巨噬细胞	成纤维细胞、巨噬细胞、内皮细胞	酪氨酸激酶受体家族
Steel 因子(干细胞因子)	40~50(二聚体)	造血干细胞	骨髓基质细胞和许多其他细胞	酪氨酸激酶受体家族

注:CSF:colony-stimulating factor; EPO:erythropoietin; G:granulocyte; M:macrophage; GM:granulocyte/macrophage; IL:interleukin; Steel:Steel 基因产物;细胞因子(cytokines):细胞分泌的蛋白质或肽分子,在细胞与细胞通讯中起局部信号传递作用,诸如干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子等,其受体为细胞表面跨膜蛋白

现对一些 CSF 的性质和作用已经查清,如大多数髓样细胞最早的祖细胞的分化需要有粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)的影响。但是如果 GM-CSF 与粒细胞集落刺激因子(G-CSF)配合,则可使粒细胞/巨噬细胞祖细胞只分化为粒细胞(主要是嗜中性白细胞);而 GM-CSF 与巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)配合,则可使同样的祖细胞分化为单核细胞(巨噬细胞)(图 16-16)。

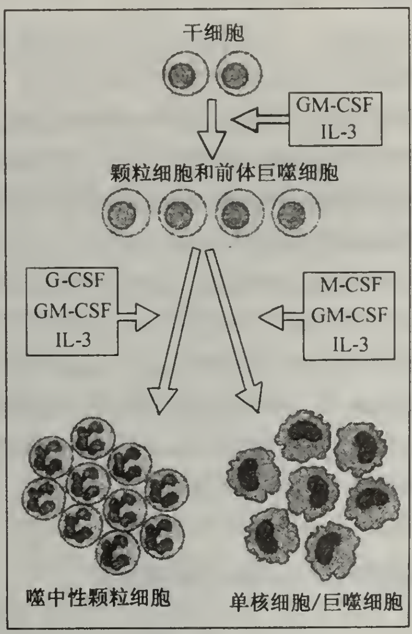


图 16－16　不同的生长和分化因子或因子组合可使靶细胞产生不同的分化结果示意图

嗜中性白细胞和巨噬细胞都来源于共同的祖细胞，它们的分化途径由生长因子 G-CSF 与 CSF 来决定。同时也需要生长因子 GM-CSF 和 IL-3，它们的配合促进了髓样细胞系的生存和增殖

(2)红细胞终末分化中调控区座位对血红蛋白合成的转录调节：红细胞分化最终表现为合成大量的能携带氧的血红蛋白。血红蛋白是由不同的珠蛋白亚基组合而成，此外肌红蛋白和血绿蛋白亦是由珠蛋白组成。珠蛋白是一类蛋白质，分为两种类型，即 α 型和 β 型，每一型都是一个基因群，α 型含有 ζ、α、α 3 个基因，β 型含有 ε、G_γ、A_γ、δ 和 β 5 个基因(图 16－17)，两种基因家族位于不同的染色体上。脊椎动物的血红蛋白是珠蛋白四聚体，即由 2 条相同的 α 型珠蛋白链和 2 条相同的 β 型珠蛋白链组成。哺乳动物在不同的发育阶段，每一家族成员的表达有所不同，因而组成了具有发育阶段特征的血红蛋白。成体中的血红蛋白为 $\alpha_2\beta_2$，胚胎的为 $\varepsilon_2\zeta_2$，胎儿的为 $\alpha_2\gamma_2$。人胚的血红蛋白为 $\varepsilon_2\zeta_2$，ε 在早胚的卵黄囊中表达；自胚胎第二个月开始，ε 和 ζ 基因自行关闭，故此两种珠蛋白即停止合成，与此同时 α 和 γ 珠蛋白合成增加，从而组成了胎儿血红蛋白 $\alpha_2\gamma_2$，γ 珠蛋白在胎肝中表

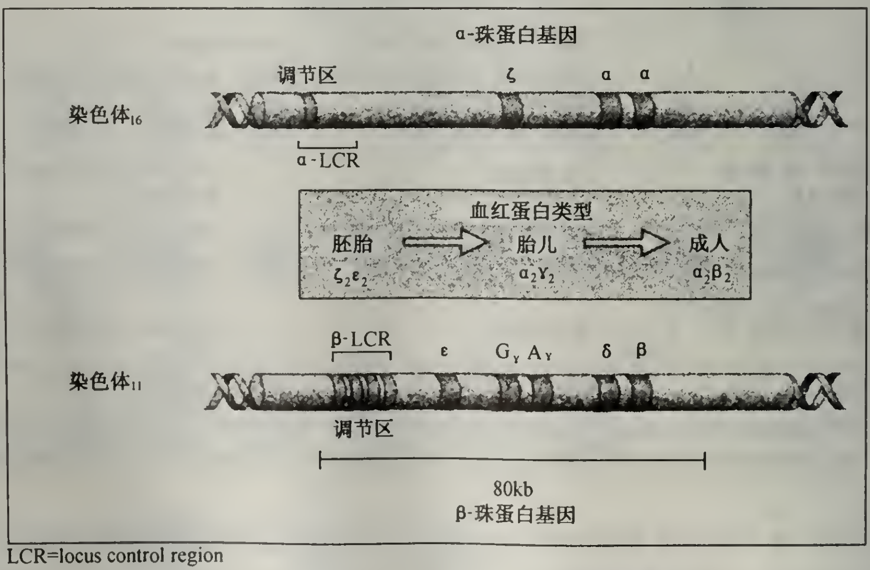


图 16－17　人体珠蛋白基因结构模式图

人体血红蛋白是由两条一样的 α 型珠蛋白亚基和两条一样的 β 型珠蛋白亚基，两个基因家族分别位于第 16 号和第 11 号染色体上。α-LCR 和 β-LCR 调节区是调节血红蛋白基因在不同发育阶段开放的调控区座位

达;胎儿发育到3个月时,β和δ基因开放,表达产物逐渐增加,而γ珠蛋白的合成逐渐下降。在降生后,这一转变加快,因而胎儿血红蛋白($\alpha_2\gamma_2$)被成体血红蛋白($\alpha_2\beta_2$)所代替(图16-18)。成体中血红蛋白基因在骨髓红细胞系中表达,$\alpha_2\beta_2$型占97%,$\alpha_2\delta_2$型约占2%~3%,$\alpha_2\gamma_2$型为1%。血红蛋白在发育中的类型转变与生理需要相适应,胎儿的$\alpha_2\gamma_2$血红蛋白的氧合能力要大于成体中的$\alpha_2\beta_2$血红蛋白(图16-19)。

在发育过程的不同阶段,血红蛋白组成类型的转变受两类基因家族的调控区的调节。α珠蛋白基因群和β珠蛋白基因群在5′端基因的上游都有一个调节区,称为调控区座位(locus control region, LCR)。例如β珠蛋白基因群的LCR长10kb以上,离ε基因的5′末端的距离为5~18kb。LCR可使任何一个与之相连的基因高效表达,它对DNA酶I比较敏感,故在结构上凝缩程度不高。LCR区结合转录因子后即被激活。LCR含有4个调控区芯,每一个芯长约300bp,都具有同少数几种转录因子结合的结合位点,如同转录因子NF-E2和GATA-1相结合的位点(图16-20),这两种转录因子在红细胞中都高水平表达。其他结合位点可同通用转录因子结合,这些转录因子的水平和总体组合决定着一种珠蛋白的开放或关闭。

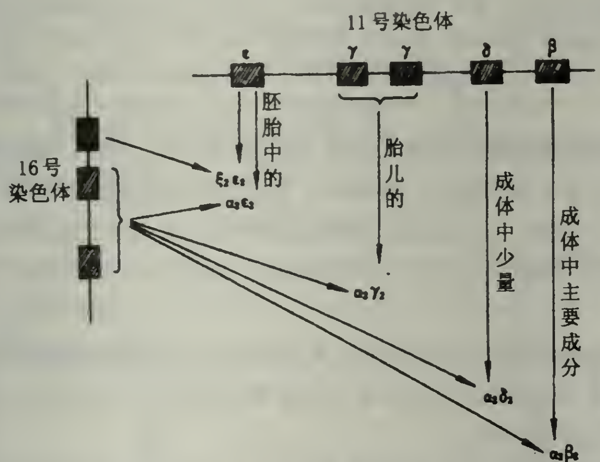


图16-18 人体不同发育时期组成血红蛋白的各种珠蛋白链的百分比变化
(引自Huehns et al. 1964)

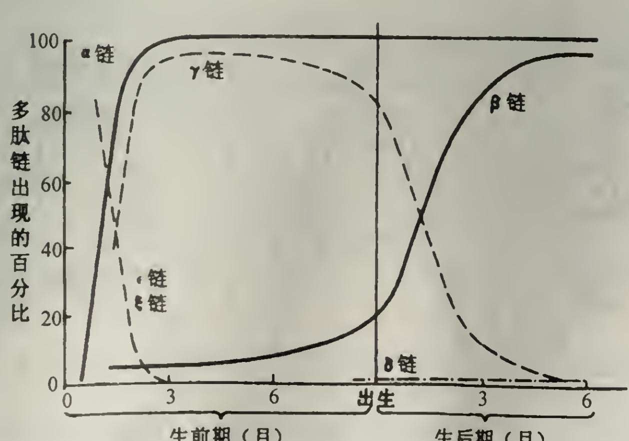


图16-19 各个珠蛋白基因在胎儿期和出生后表达的百分比变化

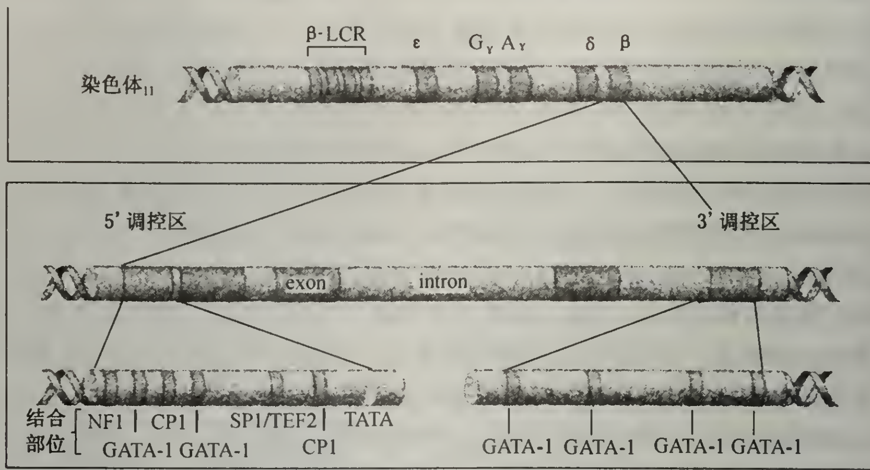


图 16－20　β 珠蛋白基因结构示意图

β 珠蛋白基因是 β 珠蛋白基因群的一部分,只在成体中表达。它的调控区含有同红细胞相对专一的转录因子结合的结合位点,如 GATA-1,也含有可同非组织专一结合的转录因子结合位点,如 NF1 和 CP1。LCR 是 β 珠蛋白基因高效表达和发育阶段调节所需要的调控区(引自 Wolpert, L. et al. 1998)

据认为, LCR 区与珠蛋白基因之间的 DNA 弯曲成袢, 因而 LCR 区与珠蛋白基因的启动子在空间位置上比较接近, 分别与二者结合的蛋白质 (转录因子) 便可相互作用,启动基因转录。因此,LCR 区在卵黄囊细胞中同 ε 启动子相互作用;在胎肝中同两个 γ 启动子相互作用; 而在成体中则同骨髓的红细胞系 β 基因启动子相互作用 (图 16－21)。

在对鸡的研究中,对血红蛋白类型的发育的阶段性转变机制了解得比较清楚。鸡的发育无胎儿阶段,故珠蛋白的合成是由胚胎型直接转变为成体型,反映为 ε 珠蛋白合成转变为 β 珠蛋白的合成。

鸡的 β 珠蛋白基因和 ε 珠蛋白基因各含有一个启动子,但共有同一个增强子。当启动子与增强子相互靠近, 形成稳定的基因转录结构时, 基因便启动转录。在胚胎时

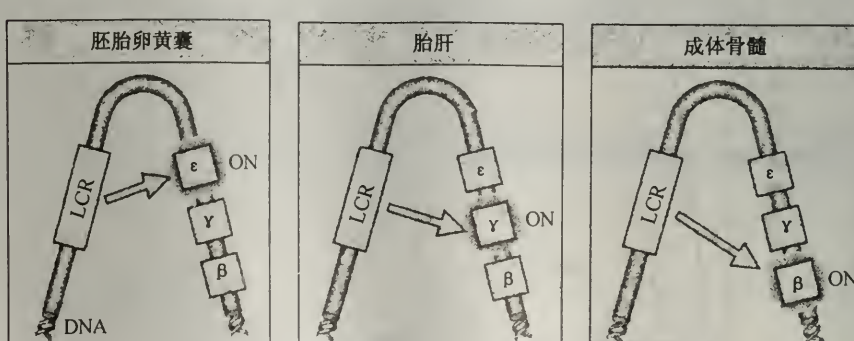


图 16－21　在人体发育过程中,β 基因家族成员相继更替激活变化图解

在不同发育阶段,LCR 分别同各个基因的启动子相互作用,控制其阶段性表达

(引自 Crossley, M. et al. 1993)

期，合成了一种 ε 珠蛋白启动子结合因子，它可介导 ε 启动子与增强子相互稳定结合。此时，β 珠蛋白启动子却缺少这样一种结合因子，故它不能同增强子相互作用。因此这时就只有 ε 珠蛋白基因进行转录。后来，不成熟的红血细胞合成了两种蛋白质，它们能使 β 珠蛋白启动子比 ε 珠蛋白启动子同增强子形成更稳定的结合关系，于是 ε 珠蛋白基因停止转录。红细胞成熟时，合成了 NF-E4 转录因子，NF-E4 既可同 β 珠蛋白启动子的一定序列结合，同时也可同结合在 β 珠蛋白基因启动子上的反式调节蛋白(trans-regulatory protein) 结合，从而使 β 珠蛋白基因启动子与增强子保持稳定的结合关系，β 珠蛋白基因得以转录，合成 β 珠蛋白(图 16－22)。

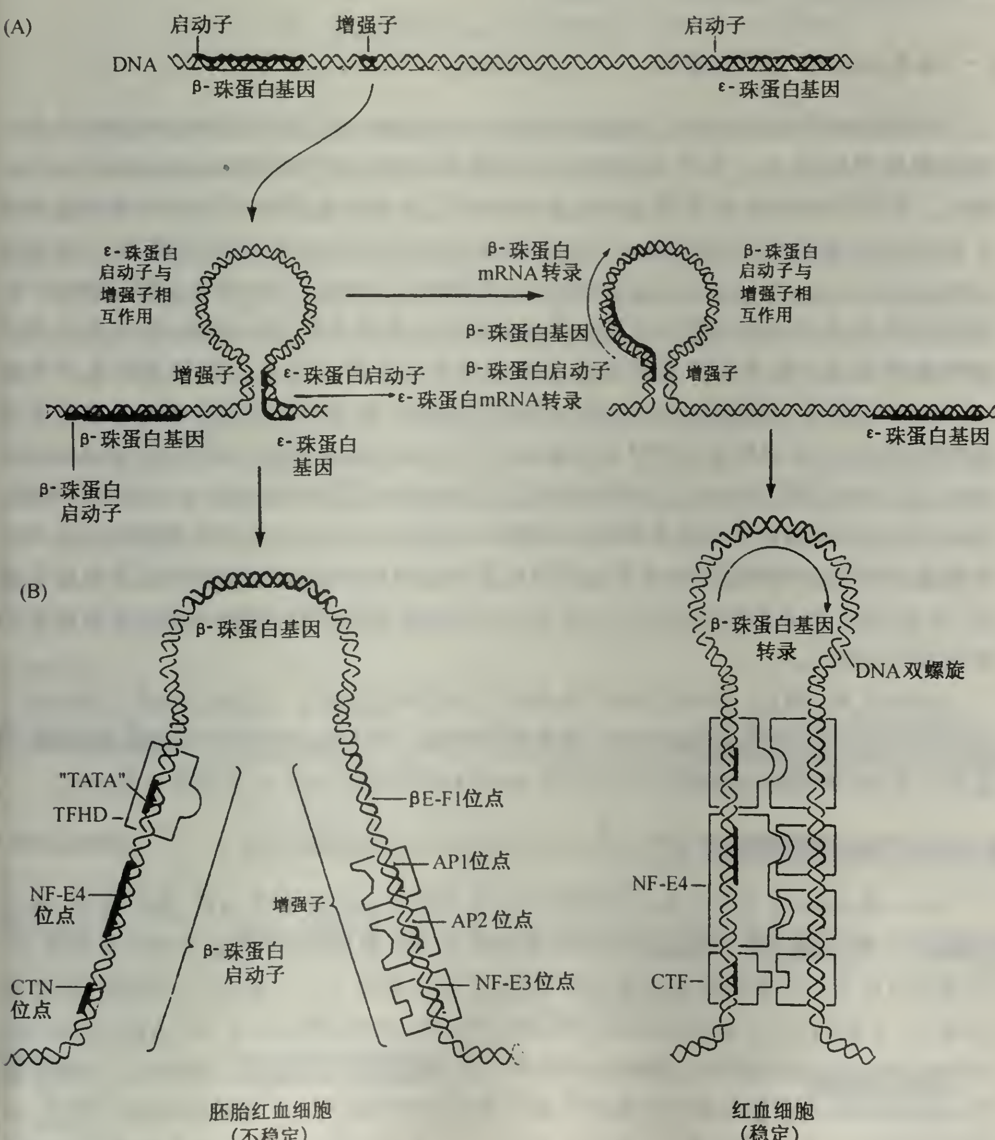


图 16－22　启动子与增强子相互作用调节鸡珠蛋白基因表达示意图

(A)ε 珠蛋白基因启动子与 β 珠蛋白基因启动子竞争和同一个增强子结合；(B)β 珠蛋白启动子和增强子结构，胚胎红细胞的前体细胞中的 β 珠蛋白基因的 5′末端含有 3 个主要的启动子成分，3′末端增强子的 4 个 DNA 成分，其中有的成分结合有反式调节因子。这时 β 珠蛋白基因不转录，随着红细胞的继续发育，合成了新的反式因子，介导启动子和增强子相互作用。在一定的发育阶段，新的反式调节因子 NF-E4 和 βE-F1 使增强子与启动子发生稳定的相互作用，β 珠蛋白基因表达，合成了 β 珠蛋白(自 Gilbert，S. F. 1994)

(3) DNA 甲基化的转录调节：上述例证说明，珠蛋白基因表达的各种调节方式都是通过转录因子的作用实现的。同样，染色质本身的结构变化对基因表达也有影响，例如 DNA 中的胞嘧啶甲基化对基因活性即有调节作用。有实验表明，在人和鸡的红细胞中，与珠蛋白合成有关的 DNA 序列几乎完全未甲基化，但在不合成珠蛋白的细胞中，这些基因则高度甲基化。处于表达中的胚胎和胎儿的 β 型珠蛋白基因是未甲基化的，而到了成体时这些基因除 β 珠蛋白基因外，其 DNA 序列均发生甲基化。

二、差别基因表达的转录后调节

(一)核内 hnRNA 的不同命运

DNA 最初转录的 RNA 产物称为转录本(transcripts)。其中由 RNA 聚合酶 II 催化转录的最初转录本，分子大小不一，特称为不均一核 RNA(heterogeneous nuclear RNA)，简称为 hnRNA，或前体 mRNA。hnRNA 不仅在大小上要大于 mRNA，而且在种类上也要多于细胞质中的 mRNA，这种变化对细胞分化具有一定的意义。对海胆(*Strogylocentrotus purpuratus*)的研究表明，某些基因的 hnRNA 转录本在有的细胞中被完全降解，而在另一种细胞中则被加工成 mRNA。也就是说，同一种 hnRNA 在几种细胞中都可合成，但它在不同种类细胞中的命运不一样。因此，在核内转录产生的 hnRNA 种类要多于细胞质中的 mRNA。海胆的 *Spec1* 和 *CyIIIa* 基因分别编码钙结合蛋白和肌动蛋白，这两种蛋白质只在长腕幼虫(pluteus larva)的反口外胚层(aboral ectoderm，与口相对部位的外胚层)中得到表达。经分子杂交实验(Cagnon et al. *1992*)表明，*Spec1* 和 *CyIIIa* 基因不仅在原肠胚的外胚层中表达，而且在中胚层和内胚层中也以同样的速率转录。然而为钙结合蛋白和肌动蛋白编码的 mRNA 却只在外胚层细胞中形成，也就是说，在中胚层和内胚层中转录出的钙结合蛋白和肌动蛋白 hnRNA 没有加工成相应的 mRNA。

hnRNA 和 mRNA 在种类上的差异说明，特化细胞合成专一性蛋白质并不都是由于差别转录造成的，转录后加工也是一种重要的机制。许多 hnRNA 在核内被迅速降解，不能加工成 mRNA 进入细胞质。至于许多 hnRNA 被降解的机制，尚有待进一步查明。

(二)hnRNA 的差别加工

同一种 hnRNA 可由于加工不同而产生出不同的 mRNA 和蛋白质。现已发现，通过这种差别 RNA 加工来控制表达形式的蛋白质有 100 多种。通过外显子的不同拼接，一个基因可制造一个关系近缘的蛋白质家族。因此在这里，“一个基因，一种多肽”的概念应被“一个基因，一个蛋白质家族”所代替。例如，为细胞黏合分子 N-CAM(neural cell adhesion molecule)编码的 mRNA 前体物即可被加工成 100 多种不同的形式。为骨骼肌和成纤维细胞中 β 原肌球蛋白编码的基因所转录的 hnRNA，也有类似的加工形式。β 原肌球蛋白含有 11 个外显子，其中外显子 1～5，8 和 9 在所有的 β 原肌球蛋白 mRNA 中都保留，而外显子 6 和 11 则只保留在成纤维细胞和平滑肌细胞的 β 原肌球蛋白 mRNA 中，外显子 7 和 10 则用于合成骨骼肌的 β 原肌球蛋白(图 16－23)。在平滑肌和成纤维细胞中产生了一种蛋白质，能阻碍在骨骼肌专一剪接位点上形成剪接体(spliceosomes)，故不能合成骨骼肌细胞的 β 原肌球蛋白 mRNA。

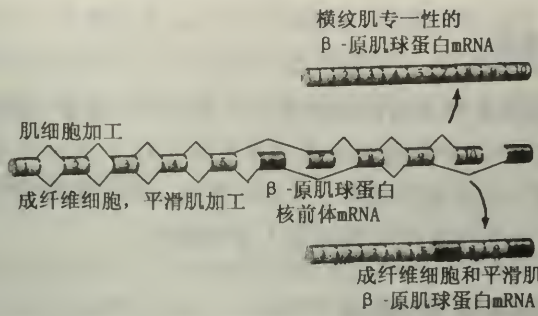


图 16－23　β 原肌球蛋白 mRNA 前体物的不同剪接方式示意图
（说明见正文）

又如在淋巴细胞上表达的一种黏合分子 CD44 糖蛋白，当淋巴细胞受到抗原刺激发生分化反应时，则被剪接成了这种蛋白质的另一种变异体 CD44v。CD44v 分子可使淋巴细胞黏附到炎症部位的静脉血管壁上，并离开血循环进入组织，发挥抗炎症作用。如果这种变异体出现在淋巴细胞瘤细胞上，则细胞也会离开血管发生转移，产生新的病灶。

B 淋巴细胞受到抗原刺激时，其细胞表面免疫球蛋白类型的转变，也是 hnRNA 发生差别加工的典型例证。开始时细胞表面免疫球蛋白为 IgM，在第一次受到抗原刺激后，IgM 和 IgD 都合成，后来逐渐为 IgD 所代替。这种细胞表面免疫球蛋白类型的转变并不是由于转录本身不同所致，而是由 hnRNA 的加工差异造成的。实际上，在转录时合成的是同一种转录本，均含有可变区（抗原结合区）和 μ(IgM)及 δ(IgD)恒定区编码的序列，中间隔有内含子。进入细胞质的 mRNA 究竟是 IgD 型，还是 IgM 型，要依赖于转录本的剪接方式而定。如果切去的是 δ 外显子，则产生 IgM 型 mRNA；如果切去的是 μ 外显子，则成为 IgD 型 mRNA。而在由 IgM 向 IgD 转变当中，则两种剪接方式都有，故合成了两类免疫球蛋白（图 16－24）。

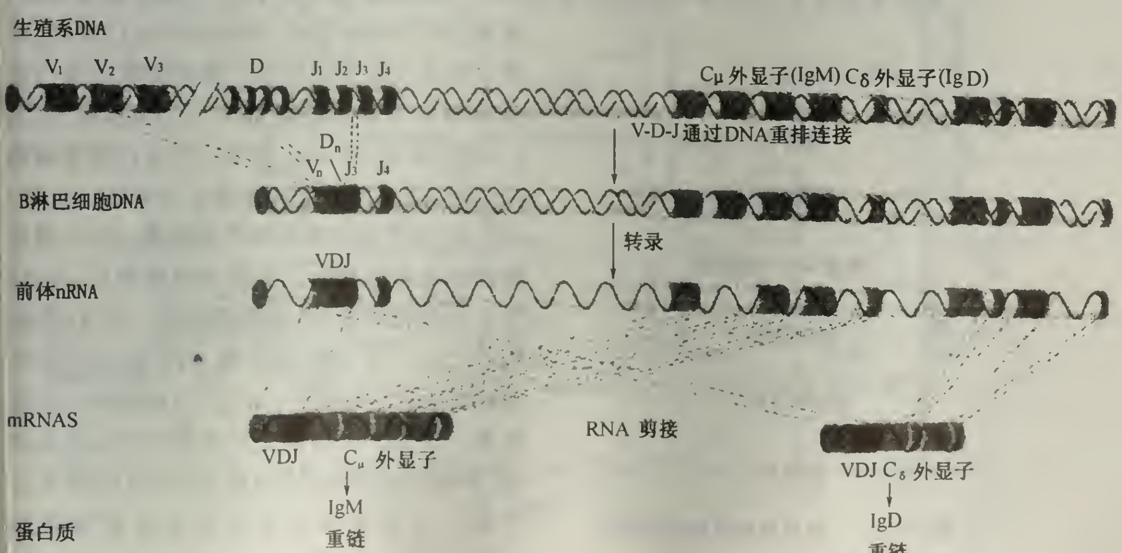


图 16－24　B 淋巴细胞 IgM 和 IgD 的不同剪接表达模式图

在淋巴细胞发育过程中、V、D 和 J 序列通过易位与恒定区相接，构成了重链。基因的转录本中含有 μ(IgM)和 δ(IgD)恒定区。经不同剪接，或产生缺 δ 恒定区的 IgM 型 mRNA 或缺 μ 恒定区的 IgD 型 mRNA
（自 S. F. Gilbert　1994）

(三)mRNA 的专一性降解

mRNA 的专一性破坏是控制基因表达的又一条途径。例如,在哺乳动物成红细胞(erythroblats)的分化过程中,早期细胞合成了若干种 mRNA,其中只包括少量的珠蛋白 mRNA。但到后期最后几次细胞分裂时,只有珠蛋白 mRNA 被保留下来,其他种类的 mRNA 均被降解,因此合成的蛋白质 90% 以上是珠蛋白。

三、细胞分化的翻译水平调节

在细胞质中虽然已有成熟 mRNA 的存在,但其翻译活动还要受许多因素的调节。血红蛋白的合成即是一例。

(一)血红素的调节作用

血红蛋白是特化的红细胞合成的专一蛋白,其合成过程除要受转录水平和转录后调节外,还存在着翻译水平的调节。后一种调节是通过两条途径进行的。

1. 血红素过多的反馈抑制

血红素合成途径要经过 4 步反应,催化第一步反应的酶为 δ 氨基 -γ 酮戊酸合成酶(δ-aminolaevulinate synthetase, DALA synthetase),血红素过多时,可反馈抑制 DALA 合成酶的活性,从而血红素的合成量下降(图 16-25)。

2. 过多血红素刺激珠蛋白合成

在正常情况下,血红素和血红素多肽链的合成是按比例进行的。当血红素增加时,珠蛋白的合成即提高;而在缺少血红素时,珠蛋白的合成即受到抑制。真核细胞的蛋白质合成调节与翻译起始因子 2(initiation factor 2, eIF2)有关,当 eIF2 被专一性蛋白质激酶磷酸化后,蛋白质的合成速率就会降低。通常,eIF2 与 GTP 结合可介导甲硫氨酰 tRNA 同核糖体小亚单位结合,此复合物随即与 mRNA 的 5′末端帽结合,启动翻译活动。在 AUG 密码子之后,与 eIF2 结合的 GTP 被 eIF2 水解成 GDP,eIF2 构象发生改变,与核糖体小亚基脱离,于是,核糖体大亚基便可与小亚基结合,开始合成蛋白质。但是,eIF2 与 GDP 结合牢固,只有在有鸟嘌呤核苷酸释放蛋白(eIF2B)时,才能引起 GDP 的释放,从而使 eIF2 得以与一个新的 GTP 分子结合而被重新利用。如果 eIF2 发生了磷酸化,它便与 eIF2B 结合异常牢固,无法完成核苷酸交换,因而 eIF2 也就无法被重新利用。

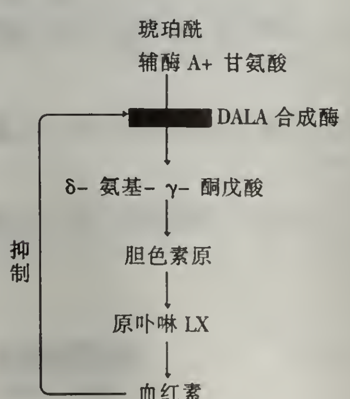


图 16-25　血红素合成的反馈调节

血红素的多少也恰是通过 eIF2 的磷酸化变化而对珠蛋白的合成进行调节。当血红

素缺乏时,专一性蛋白质激酶使 eIF2 发生磷酸化,磷酸化的 eIF2 与 eIF2B 牢固结合,中止翻译活动。当血红素过多时,它可与蛋白质激酶结合,使激酶失活。失活的激酶不能使 eIF2 磷酸化,于是翻译得以进行。因而只要有血红素存在,珠蛋白就能继续合成。

(二)血红蛋白亚基按比例合成

一个二倍体细胞中含有 4 个 α 珠蛋白基因和两个 β 珠蛋白基因,如果这些基因都以相同的速率进行转录和翻译,那么 α 珠蛋白分子的数量应为 β 珠蛋白的一倍。但实际上 α 与 βmRNA 之比为 1.4∶1, α 珠蛋白分子与 β 珠蛋白分子数量之比为 1∶1,最终达到按比例平衡合成。这种平衡调节机制是发生在翻译起始步骤,二者的 mRNA 和起始因子结合时,与 α 珠蛋白 mRNA 相比,β 珠蛋白 mRNA 具有更强的竞争性,从而达到平衡翻译。这是由于两种珠蛋白 mRNA 的 5′核苷酸序列有明显的不同(图 16-26),与 α 珠蛋白 mRNA 相比,β 珠蛋白 mRNA 更容易被起始因子所识别,因而具有更高的翻译效率。体外实验表明,当两种 mRNA 以等量存在时,如果限制起始因子的供应量,那么合成的蛋白质中,α 珠蛋白只占 3%。如果起始因子供应充分时,则两种 mRNA 以等效翻译,α 珠蛋白分子与 β 珠蛋白分子数量之比为 1∶1。因此,α 珠蛋白、β 珠蛋白与血红素之间建立一定比例关系的最后调节机制是发生在翻译的起始步骤。

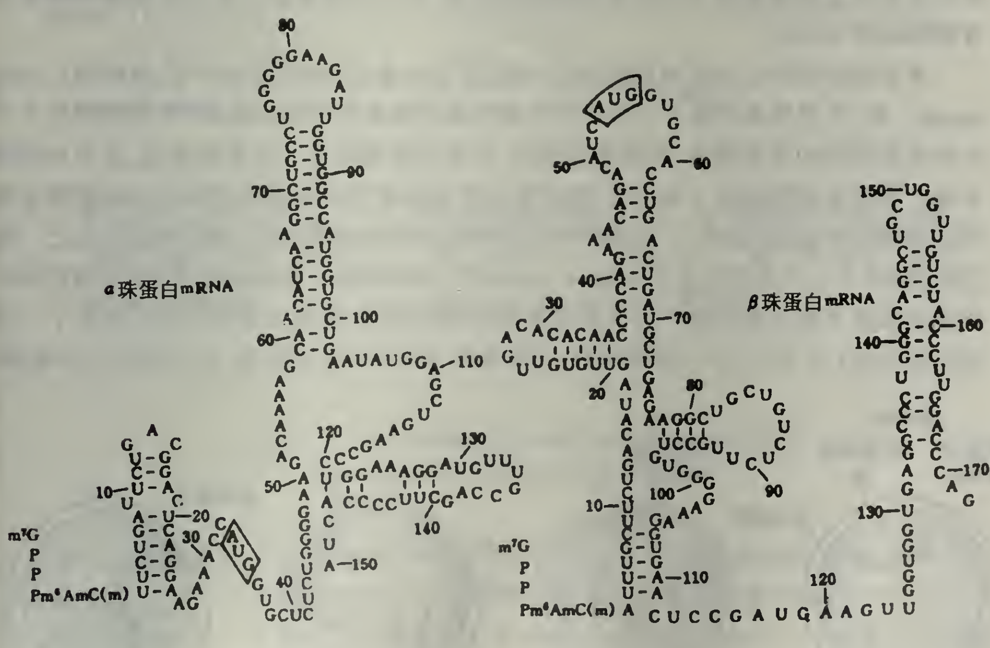


图 16-26 小鼠 α 珠蛋白和 β 珠蛋白 mRNA 核苷酸链 5′末端的二级结构(引自 Pavlakis et al. 1980)

总的看来,细胞分化是生物个体发生中的一种极为复杂的过程,是保证生物个体正常发育和生存的基本生命过程,不能简单地归结为专一基因或基因群的开放或关闭。细胞分化要涉及到许多环节的错综复杂的相互关系,基因的开放或关闭是其中的关键环节,但不是唯一的环节。

第四节　细胞分化中的核质关系

自然界在长期进化过程中,产生了极为严密有序的生命基本结构单位——细胞。细胞是由细胞质和细胞核(或拟核)两个部分组成,二者相互依存,既不存在没有细胞核的生命体,也不存在没有细胞质的生命体。在研究细胞的生命活动时,对这两个部分都应给予足够的重视。对多细胞生物来说,细胞分化是个体发育最基本的变化过程。当我们注意到基因表达在细胞分化中的关键作用时,决不能忽视蛋白质装置(protein machines)的重要作用。现在看来,早期胚胎学家,特别是实验胚胎学家所关注的核质关系问题,归根结蒂是基因与蛋白质的相互关系问题。然而问题并不这么简单,细胞也有细胞的"经络","牵一发而动全身"。在第三章中我们介绍过蛋白质组学的概念,这一概念的提出反映了人们开始认识到细胞是一个由许多蛋白质装置组建而成的高度有序的空间结构。因此,我们在研究细胞分化时,不能只见基因不见蛋白质,也不能只见细胞核不见细胞质。

一、受精卵细胞质的不均一性

个体发育从受精卵开始,经过卵裂和胚胎发育分化出各种组织和细胞。不同细胞的产生往往与细胞获得不同性质的细胞质有关。卵子的细胞质不能只看作是为胚胎发育提供营养物质。

某些动物的卵子经受精被激活后,细胞质发生流动,物质重新分布。柄海鞘(*Styela partita*)卵,在受精前质膜下方有一层含黄色脂类物质的皮层细胞质,它包围着位于中央的呈灰色的卵黄细胞质。在减数分裂时,卵核破裂释放出一种清澈物质,分布在动物半球。精子由植物极进入卵子后,黄色的皮层细胞质和由卵核破裂释放出的清澈细胞质流向植物半球(下半部)。当精原核由植物极向着赤道移动时,脂类物质也与之一起迁移,形成了一个黄色半月区(yellow crescent),由植物极一直延伸到赤道。细胞质的区域流动依赖于精子中心粒产生的微管系统。结果不同性质的细胞质在卵中形成了一定的区域分布(图 16-27)。研究表明,在黄色半月区中产生的细胞,后来则分化为被囊

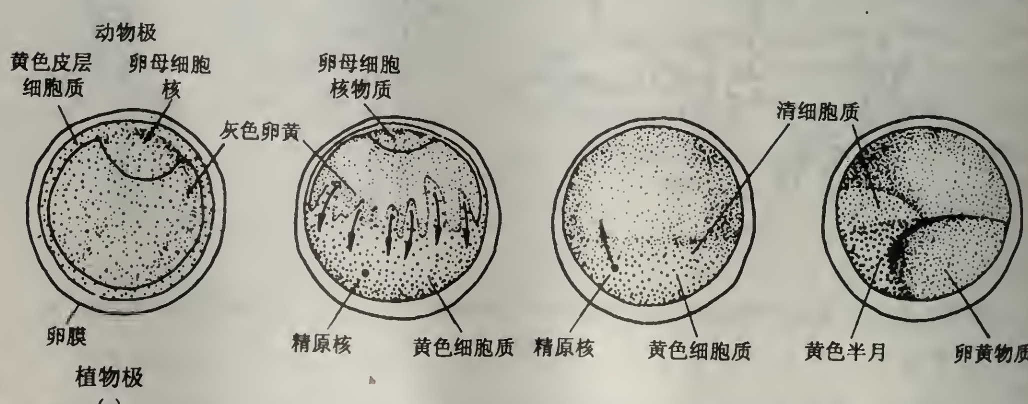


图 16-27　柄海鞘(*Styela partita*)卵受精后,细胞质的再分布

(a)受精前,黄色皮层细胞质包围着灰色卵黄细胞质;(b)受精后,黄色皮层细胞质和卵核清澈细胞质向植物极流动;(c)黄色和清澈细胞质随着精原核一起向赤道移动;(d)两种细胞质定位分布后,含黄色细胞质部分产生的细胞分化为肌细胞,含清澈细胞质部分产生的细胞分化为间叶组织(引自 Conklin　1905)

幼虫的肌细胞。

从上面的例子可以看出,受精卵中不同物质对卵裂球后代的分化方向具有决定作用。最具有说服力的例证是 Wilson(1904)对软体动物角贝(*Dentalium*)的研究。角贝受精卵的细胞质物质呈梯度分布,动物极和植物极各具有一个清澈细胞质区,卵的中部为颗粒细胞质区。临近第一次卵裂时,植物极细胞质向细胞外突出一球形结构,此结构称为极叶(polar lobe)。第一次卵裂之后,形成了 AB 和 CD 两个卵裂球,极叶缩入 CD 细胞中。临近第二次卵裂时,CD 细胞再次伸出极叶,分裂完毕后极叶又缩回到 D 细胞中(图 16-28),此后不再出现极叶。Wilson 为了验证极叶物质的作用,在第一次卵裂时,将伸出的极叶切除,切除极叶的细胞虽仍能正常分裂,但是所形成的幼虫不完整,缺少内胚层衍生物,如肌肉、口、壳腺、足等。而且他还进一步证明,如果切除 4 细胞阶段的 D 细胞也可产生同样的畸形胚胎。由此证明,极叶物质含有诱导 D 细胞分化为中胚层的决定子。他在实验中表明,这种中胚层决定子在受精后不久即定位于专一的细胞质区。潜藏在极叶中的中胚层决定子与细胞骨架结合,定位于皮层中,而不是存在于可扩散的细胞质中。

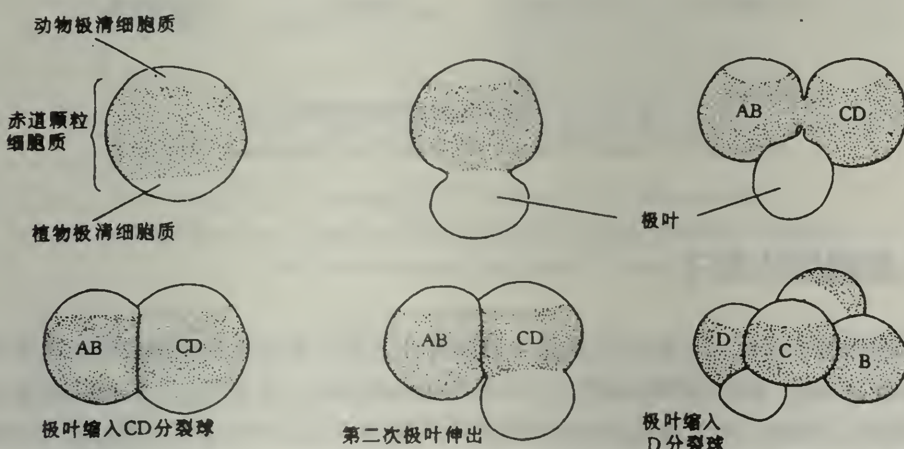


图 16-28 角贝在卵裂过程中极叶的伸出与缩回的变化
实验证明,极叶中含有中胚层决定子物质

未受精的海胆卵,从动物极到植物极卵物质呈梯度分布,动物极较透明。卵物质的这种分布方式对个体发育和细胞分化有着决定作用。如果用玻璃针将海胆卵纵切为二,进行受精后,每一半都可发育成一个正常幼虫,只是身体比较小。海胆卵切开的卵块亦可受精,并能分裂和发育成单倍体幼虫。如果将卵横切为二再受精,则动物极一半发育成一个不正常的持久囊胚(dauerblastula),而植物极一半发育成一个具有扩大肠管的幼虫(图 16-29)。不同的卵块之所以能发育成不同的幼虫,是由于所分到的卵细胞质的成分有所不同。纵切的卵,因两半都分到了相同的全套卵物质,故都可发育成较小的完整幼虫。在正常发育过程中,不同性质的卵质通过细胞分裂分别被分配到不同的细胞中,再经过原肠作用,不同的细胞分化成不同的组织。

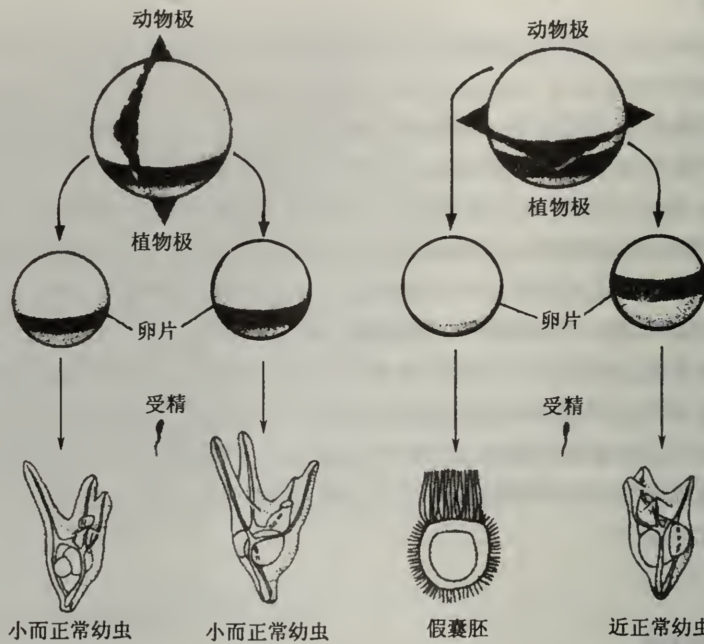


图 16－29　海胆卵物质的轴性梯度分布

因切割方向不同，卵的不同部分分裂后分别发育成不同的幼虫(详解见正文)

二、细胞质决定子

前面我们已讲过，Weismann 主张细胞分化是由于各种组织分别保留了各自所特有的遗传物质，他把这种物质称为决定子(determinants)。后来证明，Weismann 的这一主张是不正确的，但是他所创用的决定子一词却被大家沿用下来了，不过是含义有所改变。现在所称的决定子是指卵和胚胎细胞中所含的蛋白质和 RNA 性质的细胞质因子，这些细胞质因子通过细胞分裂被不均等地分配到子细胞中，不同性质的决定子影响着细胞向不同方向分化。

(一)性细胞决定子

在许多种动物中发现了卵细胞中含有能决定性细胞分化的物质。

秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*）是一种良好的实验材料。这种线虫只有 1mm 长，细胞数量有限，约仅有 959 个体细胞和 1000～2000 个性细胞。个体发育中的细胞谱系已经查清，第一次卵裂为不等分裂，两个子细胞一大一小，大的称 AB 细胞，构成虫体前端；小的称 P_1 细胞，为虫体后端。P_1 细胞相当于一个干细胞，分裂后的一个子细胞仍为 P 型细胞，而另一个子细胞则进入另外的发育途径(图 16-30)。经过三次卵裂产生的 P_4 细胞产生了生殖细胞。在受精前，卵中遍布有一种颗粒物质，称为 P 颗粒，或生殖系颗粒(germ line granules)。受精后 P 颗粒向后端迁移集中，P 颗粒的迁移与微丝的作用有关。当发育到 26 细胞阶段时，P 颗粒完全集中到 P_4 细胞中，P_4 细胞产生生

殖细胞(图 16-31)。

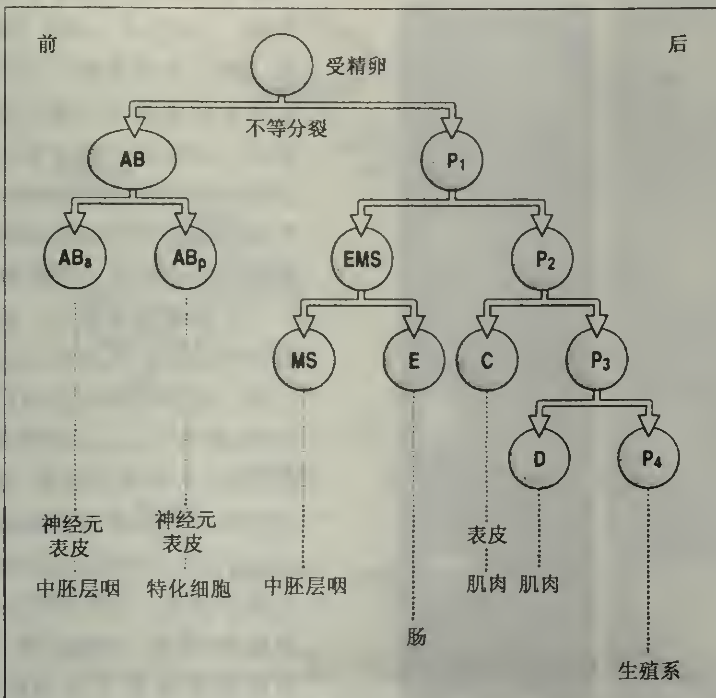


图 16-30 秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)发育早期的细胞谱系
第一次卵裂产生的 AB 和 P_1 细胞的发育命运即已确定,它们的后代细胞都有一定的谱系,生殖细胞均来自 P_4 细胞,而肠细胞来自 E 细胞

昆虫性细胞的发生也有类似于线虫的情况。果蝇(*Drasophila*)卵的后端细胞质含有一种颗粒物质,这部分细胞质与其他细胞质不同,故称为极质(pole plasm),所含的颗粒称为极粒(polar granules)(图 16-32)。卵受精后 2 小时内,只进行核分裂,而细胞质不分裂,形成了合胞体胚胎(syncytium embryo)。随后核向卵边缘迁移,每个核周围包上了质膜,形成了细胞胚盘(cellular blastoderm),约有 3500 个细胞。这时每一个核都具有全能性,细胞既可分化成性细胞,也可分化成体细胞。细胞的分化命运决定于所含的细胞质的性质。移向后端的核,形成了含极质的细胞,称为极细胞。极细胞最后分化为性细胞(图 16-33)。

基质中的极粒是由蛋白质和 RNA 所组成。如果用紫外线照射卵的后端,使极质受到破坏,受精卵将发育成无生殖细胞的不育个体。当核进入极质中,极粒围绕在核周围,诱导极细胞分化为生殖细胞。如果将未受照射的正常极质注入到卵的前端,则前端细胞亦可分化为生殖细胞。说明极质能决定生殖细胞的分化。

决定生殖细胞分化的细胞质成分称为生殖质(germ plasm)。生殖质决定生殖细胞分化的现象在动物界相当普遍,除了无脊椎动物外,在鱼类和两栖类中也发现有生殖质的存在。蛙受精卵的植物极有一部分皮层细胞质,实验证明含有这部分细胞质的细胞将分化为原生殖细胞的前体细胞。Blackler(1966)曾用两种蛙做实验,一种的细胞核含一个核仁,另一种含两个核仁。他用前者作供体,将其由植物极皮层细胞质形成的内胚层区切下来,植入到另一种蛙神经胚(受体)的内胚层中。结果,切除此部分内胚层的

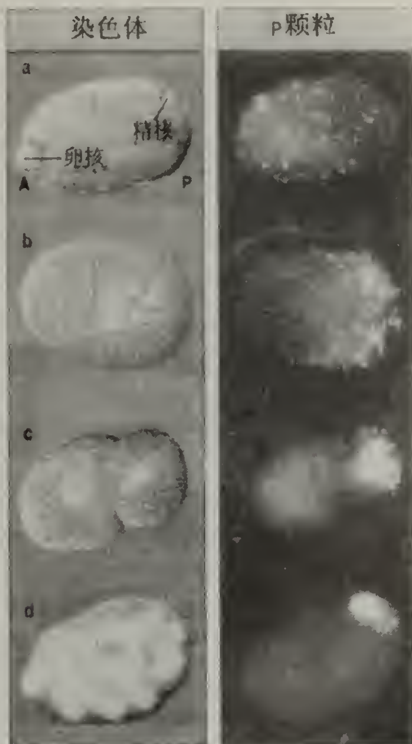


图 16 - 31　线虫卵受精后 P 颗粒在后端的定位集中
左侧为普通光镜图;右侧为荧光镜下显示的图像
(自 Strome, S. et al. 1983)

供体胚发育成的个体无生殖细胞，为不育型。而受体胚发育成的个体是可育的，它既含有 1 核仁生殖细胞，也含有 2 核仁生殖细胞，与正常成体交配后所生的后代是 1 核仁与 2 核仁的混杂型。说明有一部分配子是来自于供体胚的内胚层区(图 16-34)。如果用紫外线照射蛙胚的植物极表面，也会使发育成的个体缺少生殖细胞。

在正常卵细胞中，决定子有一定的空间定位。虽然可人为改变其分布位置，但其性能不会因位置的改变而改变。蛔虫(*Ascaris*)卵的植物极含有极质，第一次卵裂为纬裂，极质进入植物极裂球。植物极裂球的细胞核受到保护，染色体不消减，其后代细胞分化为生殖干细胞。如果在第一次卵裂时，将卵转 90°横放，再加以离心，使原来植物极的细胞质平均分配到两个裂球中，结果这两个细胞的染色体都不发生消减，都具有产生生殖干细胞的能力。这也是表明极质决定生殖细胞分化的有力证明(图 16 - 35)。

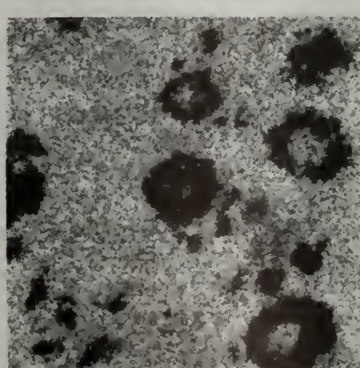


图 16 - 32　从果蝇极细胞中分离出的极粒电镜图(自 Mahowald, A. P.　1994)

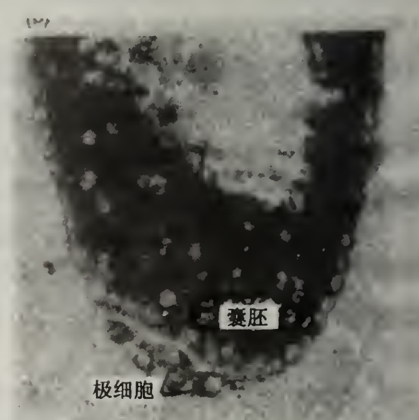


图 16 - 33　果蝇胚胎发育至囊胚阶段，后端的极细胞将分化为性细胞

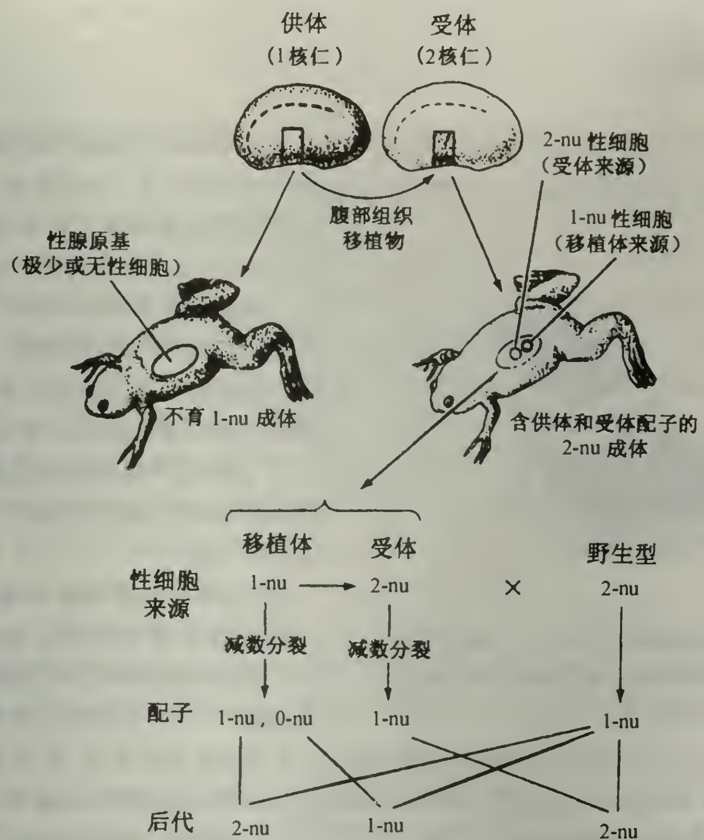


图 16－34　Blackler 的蛙胚含有生殖质的植物极区组织移植实验过程和结果示意图

在发育过程中，生殖质进入了预定内胚层的少数几个细胞，这些细胞发育为生殖细胞。将含 1 个核仁蛙品系早期胚胎的腹部组织移植到另一个含 2 个核仁蛙品系早期胚胎的同位区。结果，供体胚胎发育为不育成体，而受体胚胎则发育成具有供体和受体两种品系特征的成体。成熟的受体与含 2 个核仁的野生型成体杂交，所产生的后代中有的只含 1 个核仁，说明是生殖质决定了性细胞的分化

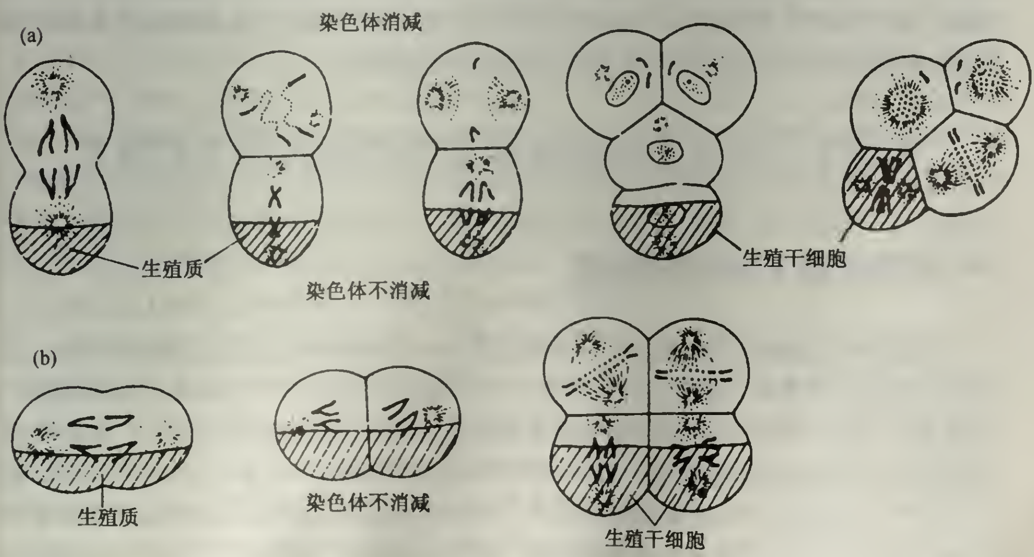


图 16－35　蛔虫受精卵的正常卵裂 (a) 和离心后卵裂 (b) 过程中生殖质分布与生殖干细胞形成的关系示意图

（二）体细胞决定子

体细胞的分化同样也受细胞质因子的决定。例如昆虫幼虫自前向后分布着若干未分化的成虫盘（imaginal discs），前部的成虫盘发育为成虫的头、胸和前腹部，后部的则发育为后腹部结构。如果用紫外线照射摇蚊（*Smittia*）卵的前部，结果原应形成头、胸和前腹部的结构却形成了后腹部体节，发育成了双腹部畸胎，前部与后腹部形成镜像对称。这说明，卵的前端含有诱导前部体节分化的正控制因子（决定子），这种因子受到破坏失活后，导致前端体节按照后端体节的发育方式分化（图 16－36）。

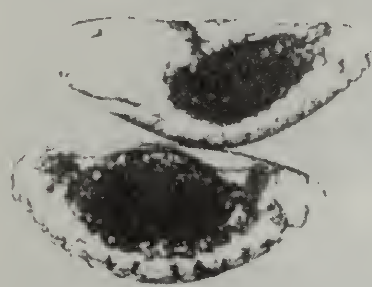


图 16－36　摇蚊的正常胚胎（上）和受照射后发育成的双腹部胚胎，形成前后部对称结构（引自 Kalthoff, K.　1969）

在成体中也存在着子细胞因得到不同的细胞质而导致分化命运不同的现象。例如蚱蜢的神经母细胞分裂成两个子细胞，一个分化为神经节细胞，另一个仍保持为未分化的干细胞（神经母细胞）状态。干细胞停留在原位，形态不变。如果在分裂中期，人为地将纺锤体倒转 180°，使两套染色体移向两极的方向颠倒，结果并未引起对应位置上的子细胞改变分化方向。也就是说，在原来应产生干细胞的位置上仍产生干细胞。这说明，子细胞的分化方向是由得到的细胞质来决定，与分到哪一个染色体套（chromosome set）无关。

在哺乳动物中，囊胚滋养层细胞的分化看来也受细胞质的影响。有实验表明，如果将硅油滴注入到小鼠 2 细胞或 8 细胞胚胎分裂球的边缘区，当胚胎发育到囊胚时，硅油滴均出现在滋养层细胞中。这说明，得到早期裂球皮层细胞质的细胞分化为滋养层细胞。然而在哺乳动物细胞中早期胚胎细胞质的分配对细胞分化的影响并不是绝对的，裂球会因所处的位置不同，而使其分化命运受到调整。

第五节　卵中影响细胞分化的细胞质因子的性质

一、决定子是 RNA 调控信息

在胚胎学发展早期，提出决定子的概念具有一定的推理性，只认识到它的存在，但对它的结构和性质并不清楚。直到 20 世纪 70 年代才对决定子的化学性质有所认识。实验表明，决定子对紫外线和核糖核酸酶很敏感，说明它是核糖核酸性质的。前面我们介绍过，昆虫受精卵在发育过程中，前半部形成头部和胸部 3 个体节，后半部形成腹部 8 个体节，最后端为产生生殖细胞的极质。用紫外线（波长 265nm 和 285nm）照射摇蚊（*Smittia*）卵的前部，则发育为双腹部畸胎；照射果蝇卵的后端，则发育为无生殖细胞的个体。这些结果恰是由于破坏了 RNA 造成的。如果向卵的前端注入核糖核酸酶，同样

也可使卵发育为双腹部畸胎，若注入其他酶则无此现象。化学分析也表明，影响生殖细胞分化的极粒中含有 RNA。这些实验都说明卵中的决定子是 RNA 性质的物质。

二、调控信息来源于母体

个体发育从受精卵开始，卵受精后即开始合成蛋白质，对海胆和两栖类的受精卵实验表明，去核受精卵的蛋白质合成速率与正常的受精卵一致。开始新合成的这些蛋白质几乎全部是由贮存在受精卵中的母体信息（maternal messages）翻译的，也就是说它们都是由在卵母细胞成熟过程中转录的 mRNA 指导合成。据分析，许多门动物的卵母细胞中约含有 $2\times10^4\sim5\times10^4$ 种 mRNA，每一种约有 600 个副本之多。与其他细胞相比，细胞质中所含的信息量最大且复杂，从而为充分利用核信息提供了适当的微环境。我们说受精卵具有全能性，除了由于核中含有完整的基因组外，细胞质中含有的母体信息也是不可缺少的方面。母体信息是以 RNP 颗粒的形式存在，沉降系数要大于核糖体，有的学者把它称为信息体（informasomes）。信息体中的 RNA 具有 Poly(A)（多腺苷酸）尾，故为 mRNA。这些 mRNA 与受精卵的正常发育密切相关。用放线菌素 D（actinomycin D）（抑制转录）处理海胆卵，有 90% 的 RNA 合成受到抑制，可是卵仍能发育到囊胚。如果用嘌呤霉素或亚胺环己酮处理受精卵，抑制翻译活动，结果卵完全不发育。由此可见，早期胚的发育依赖于母体信息的翻译调控，不受胚胎基因组转录产物的影响。

卵具有极性，人为地分为动物极和植物极，两极间的假想连线称为卵轴（axis）。卵母细胞中贮存的 mRNA 大部分是为管家蛋白（如组蛋白等）编码的，这些 mRNA 遍布整个卵，而为具有专一发育作用的蛋白质编码的 mRNA 则为定位分布，现已发现至少有九类母体 mRNA 是沿卵轴定位分布。这些对发育具有重要作用的蛋白质是一些信号分子。例如爪蟾（*Xenopus*）中为信号蛋白 Vg-1（属于 TGF-β 家族）编码的母体 mRNA 即定位于植物极。又如果蝇的 *bicoid* mRNA 定位于卵母细胞的前端；而 *oskar*，*nanos* 和 *cyclin* B 则定位于卵母细胞的后端，*bicoid*，*oskar*，*nanos* 等 mRNA 的编码蛋白均为形态发生素（morphogen），关于它们的作用将在下文中介绍。这些母体 mRNA 的定位分布与其分子结构有关，其核苷酸序列的 3′末端在终止密码子与多（A）尾之间有一不翻译的序列，称为 3′非翻译区（3′untranslated region，3′UTR）。爪蟾 *Vg-1* mRNA 的 3′UTR 是由 340 个核苷酸残基组成的序列，此序列可引导 mRNA 同卵母细胞前端的细胞骨架（微管）相结合。如果切去此序列，*Vg-1*mRNA 就不能移向植物极；如果将此序列连接到其它 mRNA 上，则也可移向植物极。有的学者（Macdonald，1992）分析出，果蝇的 *bicoid* mRNA 定位于卵母细胞前端与 *exuperantia*（*exu*）基因的编码产物有关，exu 蛋白可同 *bicoid* mRNA 的 3′UTR 结合，并引导其与前端微管结合。

卵母细胞中定位分布的 mRNA，在受精后经卵裂进入不同的细胞，指导合成专一的蛋白质。如角贝中即含有指导合成极叶专一蛋白的 mRNA。又如海胆胚胎发育至 16 细胞阶段时，裂球分为大中小三种，中细胞居上，小细胞居下，大细胞居中（图 16－37）。将此阶段的裂球分散开，放在含有放线菌素 D 的溶液中培养，以抑制 mRNA 的合成，然后分析不同裂球中所含的 mRNA，结果表明上层裂球与下层裂球不同。利用示踪法表明，三层裂球的发育命运也有所不同，中裂球将发育为外胚层；小裂球发育为初级间充质细胞。中层的大裂球含有导向外胚层和内胚层分化的细胞质因子，到 64 细胞时

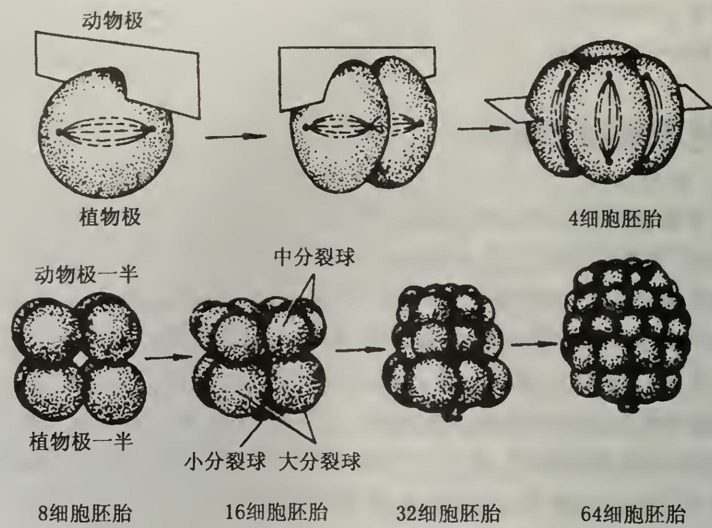


图 16-37　海胆早期发育的卵裂方式

图中的上排示第一和第二次卵裂为纵裂，第三次为横裂。至 16 细胞阶段，胚胎裂球分三层，上层为 8 个中裂球；中层为 4 个大裂球，下层为 4 个小裂球各层裂球所含的物质不同，裂球的发育命运不一（参见图 16-38）

期，中层大裂球又分裂为两层（代号分别为 veg_1 和 veg_2），上层（veg_1）产生外胚层细胞；下层产生内胚层细胞（肠管）。动物半球由来自中裂球的三层细胞组成；植物半球的三层细胞中，上两层为来自大裂球的细胞，最下一层为小裂球。各层裂球的发育潜能，可用裂球组合实验加以验证。动物半球单独培养时，将发育成球形的持久囊胚（dauerblastula），由一层带纤毛的外胚层细胞构成，完全动物极化（animalization）；如果把动物半球和 veg_1 层细胞结合在一起培养，则形成不完全动物极化的幼虫，纤毛发育受到抑制，并形成一部分肠道；如果把动物半球结合 veg_2 层细胞培养，则发育成了一个类似正常的长腕幼虫（pluteus），但是原应形成原肠及其衍生物的 veg_2 层细胞，在此幼虫中却形成了骨骼结构；如果把动物半球和小裂球一起培养，则形成了一个貌似正常的长腕幼虫，然而在这种幼虫中，内胚层则完全来自于动物半球细胞，肠管是由原应形成带纤毛的外胚层细胞形成。这一实验除了说明，64 细胞时期的各层细胞除具有一定的发育命运外，还说明动物半球细胞具有发育为肠管的潜能（图 16-38）。

从上述介绍可以看出，个体发育的编程存在于卵母细胞中，精子通过受精激活卵，启动了个体发育程序。早在 17 世纪，关于个体形态发生的机制即存在着两种截然不同的观点，一种是先成论（preformation），另一种称为渐成论（epigenesis）。先成论认为，精子或卵子中存在着成体所有器官的缩微结构，个体的形成只不过是缩微结构的生长和放大。有的人甚至认为，人的精子头部中装着一个“小人”（homunculus）。17 世纪著名的胚胎学家 Malpighi, M. 细致地观察了鸡胚的发育过程，发育开始时并没有看到有小胚胎的存在，但他仍然坚持认为，最早阶段的胚胎各个部分极其微小，以致用任何精密显微镜都无法看清。但他对鸡胚发育过程的描述，在客观上是对先成论的否定。18 世纪渐成论与先成论的争论十分激烈，渐成论认为，卵中并无预先形成的胚胎，而是由卵中的物质建成胚胎。德国胚胎学家 C. F. Wolff 为建立渐成论作出了重要贡献。他同样对鸡胚的发育做了认真观察，发现建成鸡胚的物质呈颗粒状，并发现胚胎是由胚层演变

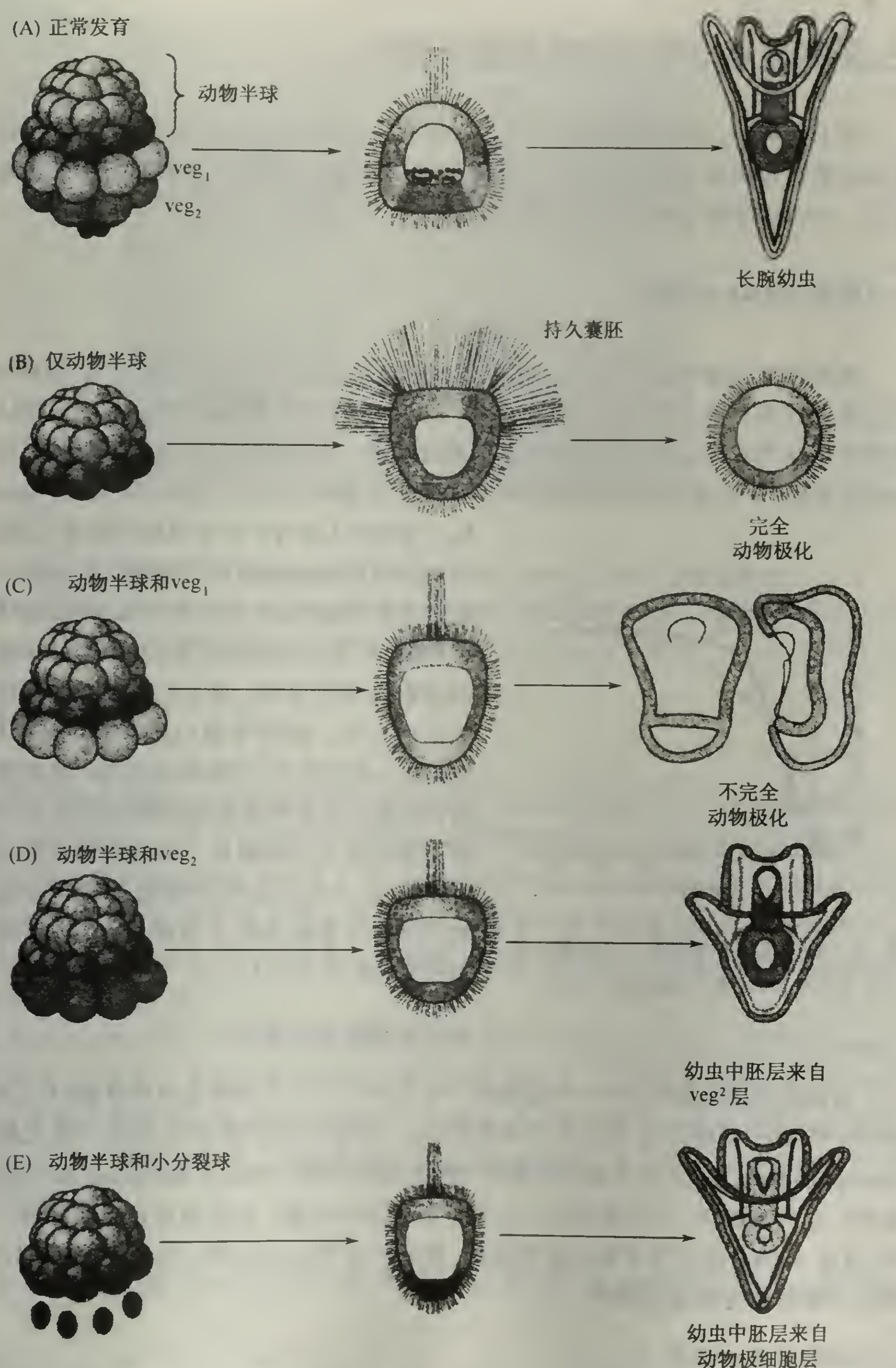


图 16－38　海胆 64 细胞胚胎各层细胞的发育命运和各层细胞不同组合的发育变化(说明见正文)
(引自 Horstadius 1939)

而成。根据现代的研究成果表明,卵中确实不存在微小胚胎,先成论的观点与事实不符。然而对卵的结构和物质分布的研究说明,卵确实不是均质的,卵物质的定位分布与胚胎各部分的形成有一定的关系,因而从现代角度来看应赋予先成论以新的概念。

三、卵的激活与母体信息的翻译调控

卵子受精后，在卵母细胞阶段转录并贮存的 mRNA 有秩序地被激活，在一定时间合成胚胎发育所需要的蛋白质。mRNA 的翻译尚要受到调节，从而对胚胎发育起调节作用。mRNA 的翻译调节途径有如下几种：

（一）隐蔽 mRNA 的利用

成熟卵母细胞中供受精以后利用的 mRNA 都结合有专一性的蛋白质，各种 mRNA 结合的蛋白质有所不同。结合有蛋白质的 mRNA 称为隐蔽 mRNA（masked mRNA），不能被核糖体所识别，因而不能结合进行翻译活动。受精后由于离子的变化，蛋白质与 mRNA 解离，从而使 mRNA 得以翻译。体外实验表明，在 0.35mmol/L K^+ 和 5mmol/L Mg^{2+} 缓冲液（相当于卵母细胞中的离子状态）中分离出的卵母细胞的 RNP 颗粒，其 mRNA 在无细胞系统不翻译。可是如果在 0.35mmol/L Na^+ 缓冲液（可使非共价结合蛋白质解离）中提取卵母细胞的 RNP 颗粒，那么它们与在受精卵中提取出的一样，能指导蛋白质合成。在受精时，Na^+ 涌入受精卵中，使细胞内的 Na^+ 浓度迅速提高。在海胆未受精的卵母细胞中只有 0.75% 的核糖体可形成多核糖体，而在受精后卵裂时可迅即增至 20%，说明受精后蛋白质合成的增加，是由于隐蔽 mRNA 的释放，而同核糖体结合所致（图 16－39）。

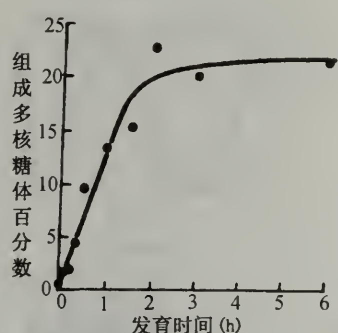


图 16－39　海胆早期发育中多核糖体的百分比升高（引自 Humphreys　1971）

（二）无帽信息的修饰

真核生物的 mRNA，在 5′末端都有一个“m^7G”（7－甲基鸟嘌呤核苷酸）帽，此帽是 mRNA 与 40S 核糖体亚单位相识别的结构。如果此核苷酸未甲基化，是无帽信息（uncapped messages），就不能进行翻译。例如，烟草天蛾（tobacco hornworm moth）卵母细胞中贮存的 mRNA，5′末端只有一个未甲基化的鸟苷酸，此母体信息不能翻译。受精时，这些 mRNA 的 5′鸟苷酸迅即甲基化，变成了完整的 m^7G 帽。具有此帽的 mRNA 随即同核糖体结合而进行翻译。

（三）封存信息的利用

卵母细胞中有些含 mRNA 的 RNP 颗粒被隔离起来，是为封存信息（sequestered messages），它们无法接近核糖体，故不能发挥作用。海胆的组蛋白 mRNA 即是这种情况，它在合成后被封存在原核中，不进入细胞质。直到受精末期，组蛋白 mRNA 才进入细胞质（图 16－37）。然而含肌动蛋白 mRNA 和微管蛋白 mRNA 的 RNP 颗粒则存在于细胞质中。

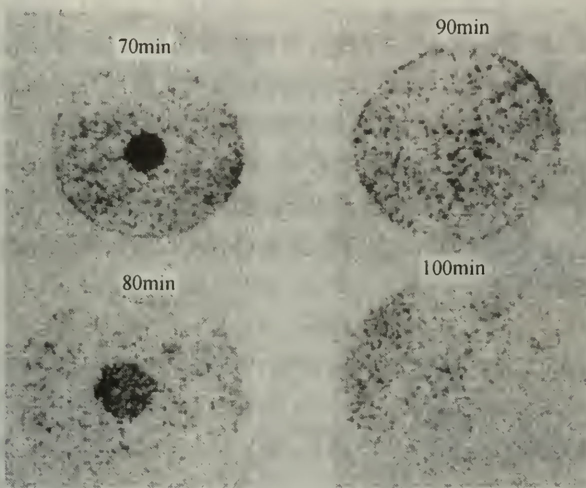


图 16－40　海胆卵母细胞中的组蛋白 RNP 封存在原核中，受精后被释放
利用放射性标记的组蛋白 mRNA 的 cDNA 探针进行分子杂交表明，在受精卵原核破裂（受精后 80～90 分钟）之前，组蛋白信息一直封存在原核之中（引自 DeLeon et al. 1983）

（四）翻译效率的改变

成熟的卵母细胞中 pH 值比较低，对蛋白质的合成有抑制作用。在对海胆的研究中发现，卵受精时，大量 H^+ 被释放到细胞外，导致细胞内的 pH 值由 6.9 上升到 7.4，与此同时蛋白质的合成速率也骤然上升。Winkler 和 Steinhardt(1981) 制备了海胆未受精卵母细胞的无细胞体外翻译系统进行实验，用透洗法将悬液的 pH 值提高到 7.4 时，在这种条件下蛋白质的合成速率亦可骤增。然而，pH 值升高能提高蛋白质合成效率的机制尚不完全清楚。

由此可见，胚胎的正常发育首先起始于受精卵中母体信息的表达。前面提到的形态发生决定子，实际上即是卵母细胞预先合成的贮存信息。这些信息定位分布，定时激活，通过各种途径调节胚胎基因组的表达。早期合成的蛋白质又对晚期发育的基因表达起调节作用。于是便形成了个体发育的反应连锁和网络，为个体的建成奠定了信息和物质基础。

第六节　细胞间相互作用和环境因素对细胞分化的影响

细胞分化一般不是单个细胞的孤立行为，它是在一定条件下发生的变化。在多细胞生物中，细胞群之间必然要发生相互作用关系，也只有这样才能形成形态正常和生命活动协调的生物个体。因此，细胞分化除了有细胞的内在决定因素外，细胞间的相互作用也是必不可少的。

一、胚胎诱导

动物在一定的发育时期，一部分细胞影响相邻细胞分化方向的作用称为胚胎诱导

(embryonic induction)。在胚胎形态发生过程中,胚胎诱导现象广泛存在。如眼的发生即是一个典型的例子。蛙胚发育到22天时,前脑两侧向外凸出,形成泡状结构,此结构称为视泡。视泡与覆盖在外面的外胚层上皮接触,诱导后者内陷形成晶状体。视泡内陷形成视杯,晶状体镶嵌在视杯口中。随后在视杯和晶状体的共同诱导下,覆盖在外面的表皮分化成角膜(cornea)。如果把晶状体切下,移植到头部的任何部位,亦可诱导同它接触的上方外胚层发育为晶状体。脊椎动物眼的发生模式基本相同,人胚是发育到22天时由间脑侧壁发生(图16-41)。在胚胎细胞分化中,诱导现象普遍存在,它对个体发生和建成具有重要的意义。

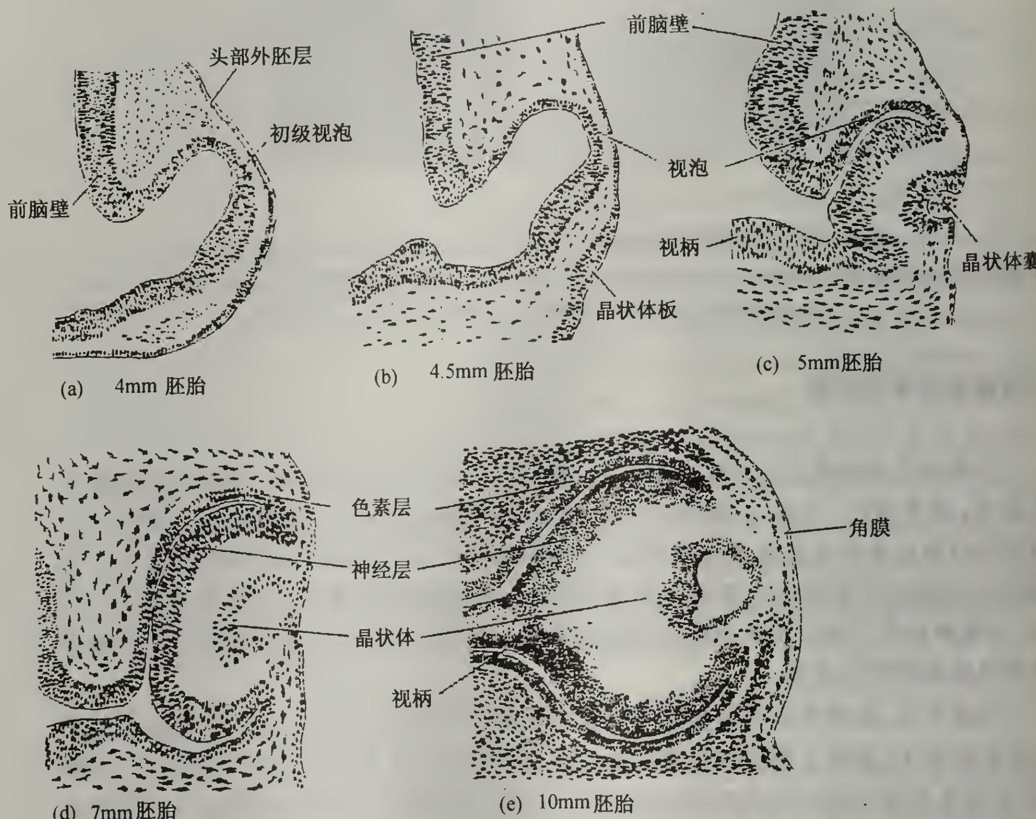


图16-41 人眼的发生示意图

(a)由间脑凸出的视泡与外胚层接触;(b~c)覆盖在视泡上的外胚层向晶状体分化;
(d)晶状体向视杯腔内陷,视杯壁的两层分别形成神经视网膜层(外)和色素视网膜;
(e)视杯和晶状体诱导外面的外胚层分化为角膜

二、细胞数量效应

细胞分化必须有一定数量的细胞为基础。例如小鼠胚胎的胰腺原基在体外进行组织培养时,可发育成有功能的胰腺组织。可是如果把原基切成8小块分别培养,则都不能发育成胰腺组织。如果把分开的小块重新合起来培养,则又能长成胰腺组织。

三、激素的作用

激素对细胞分化的影响可看作是远距离细胞间的相互作用，这种作用在胚胎发生中亦普遍存在。激素的作用具有组织特异性，靶组织的反应也不一样。例如无尾两栖类的幼体发育要经过一变态（metamorphosis）过程，在此阶段中发生的变化包括有蝌蚪的尾鳍和尾被吸收，前后肢形成等（图 16-42）。蝌蚪尾的退化与甲状腺分泌甲状腺素（thyroxine，T_4）和三碘甲腺原氨酸（triiodothyronine，T_3）有关，这是两种信号分子。如果在蝌蚪早期将甲状腺原基切除，则不再发生变态现象，而只是长成一个特大的蝌蚪。如果将蝌蚪尾切下放在体外培养，它仍然可健康生长，但如果向培养基中加入甲状腺激素，则会像在整体上一样发生退化。在退化过程中，发生了两种明显的代谢变化：①尾的横纹肌细胞中的蛋白质合成下降；②表皮、脊索和神经索细胞中的溶酶体酶活性增加，这些酶包括有蛋白质酶、DNA 酶、RNA 酶、胶原酶、磷酸酶和糖苷酶。这些酶向细胞质中释放，引起细胞凋亡，其中胶原酶起主要的作用。随后，巨噬细胞群集尾区，将被蛋白酶水解的细胞碎片吞噬掉（图 16-43）。

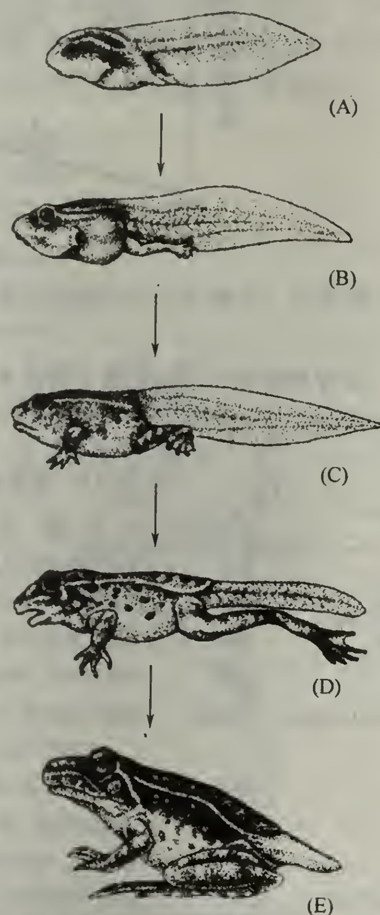


图 16－42　蛙（*Rana pipiens*）变态过程图解
（A）变态前的蝌蚪；（B）变态前的蝌蚪长出后肢；
（C）开始长前肢，尾中无骨；
（D）示退化中的尾；（E）变态完成

关于激素对基因的调节机制在信号传递一章中曾介绍过。在细胞分化过程中，激素亦可通过调节基因表达而发挥作用。实验发现，昆虫变态时，脑中的神经分泌细胞释放信号，刺激咽侧体分泌促前胸腺激素（prothoracicotropic hormone，PTTH）。后者刺激前胸腺分泌蜕皮素（ecdysone）。蜕皮素有促进变态的作用，引起幼虫蛹化。蜕皮素无激素活性，在酶的作用下，转变为具有酶活性的 20-羟蜕皮素（20-Hydroxyecdysone）。它是一种类固醇激素，可穿过质膜进入细胞质同 20- 羟蜕皮素受体结合，形成复合物，复合物结合到某些基因的调节区，引起与变态有关的专一基因表达，引起成虫盘分化。有实验表明，如果把成虫盘植入成虫体内，连续移植 9 年（达 1800 细胞代），由于缺乏幼虫激素一直不发生分化。可是把这些不分化的成虫盘再回植到幼虫体内，则又可在促变态激素的作用下，重新分化成原应发育成的器官。在果蝇中发现，20- 羟蜕皮素的作用在染色体水平上有所反应，它可使染色体的某些区段产生疏松（puffs），而使另一些疏松缩回。有些区段在 4 小时内即可产生疏松，称为早期疏松。早期疏松的表达产物和 20- 蜕皮素一起又引起另一些区段产生晚期疏松，指导合成与变态有关的蛋白质。

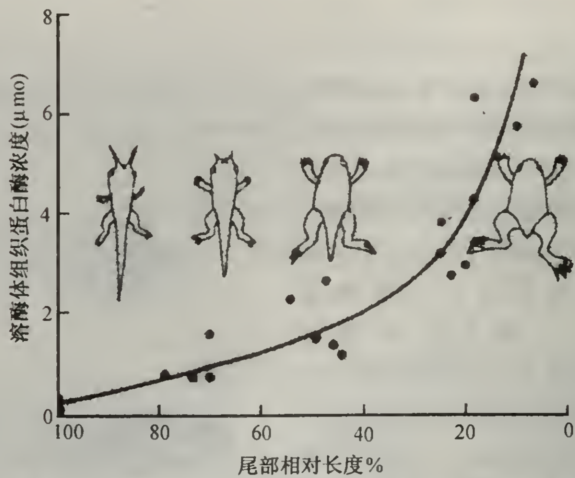


图 16-43　爪蟾(Xenopus laevis)尾部退化过程中溶酶体组织蛋白酶增加,尾部细胞被消化
(引自 Karp and Berril 1981)

在脊椎动物中，已发现了对发育和细胞分化有作用的激素，激素作用的靶细胞也已查清,表 16－2 列出了几种激素的作用。

表 16－2　脊椎动物几种激素对发育的影响

激素名称	来源	主要作用
生长激素	垂体	促进细胞增殖和蛋白质合成
促甲状腺素	垂体	促进甲状腺生长和分化
促性腺激素	垂体	促进干细胞增殖、滤泡细胞生长和间质细胞分泌
催乳素	垂体	促乳腺泌乳(酪蛋白)
甲状腺素及相关激素	甲状腺	提高代谢速率、促进蛋白质合成、引起两栖类的变态、神经元成熟(鱼类和两栖类后脑的 Mauthner 神经元退化)
雌激素	卵巢	雌性第二性征、输卵管(鸟类)和子宫(哺乳类)上皮细胞增殖和分泌、乳腺发育
黄体酮	黄体	子宫上皮进一步分化、助孕(哺乳类);乳腺进一步分化
睾酮	睾丸	雄性第二性征发育、生殖管道细胞增殖
促红细胞生长素	肾	红血干细胞增殖
胸腺素	胸腺	淋巴细胞增殖
胰岛素	胰岛	附肢正常发育;启动乳腺分泌
皮质醇	肾上腺	后期某些器官的正常发育、刺激乳腺后期分化

四、环境对细胞分化的影响

生物个体的生长发育离不开环境，环境中的物理、化学因子往往以提供信号的方式影响机体的细胞分化。前面我们讲到的昆虫变态时,脑神经分泌细胞释放信号,即是因环境中的温度和光照变化引起的。

黏菌(slime mold)的细胞分化又是受环境因素影响的一例。粘菌为植物界的一个门,但其变形体又具有动物的特性,是研究单细胞生物细胞分化的良好材料。如盘形网柱黏菌(*Dictyostelium discoideum*)生活在森林潮湿阴暗的环境中，以吞食细菌、孢子和腐殖质为生。它的生活周期可分为单细胞和多细胞两个阶段,在食物充足时,它以单细胞

变形体（myxamoebae）生活，通过有丝分裂繁殖；当食物匮乏时，一些变形体开始分泌 cAMP, cAMP 起化学信号作用，吸引更多的变形体向此中心迁移，迁移的细胞合成了一种 24Da 糖蛋白，使细胞黏合在一起，汇集成了一个包含数百万个细胞的蛞蝓形假原质团(pseudoplasmodium)。假原质团向明亮处迁移，迁移时，蛞蝓体(slug)的前部为前柄区(prestalk region)，后部为前孢子区（prespore region)。当迁移停止时，发生升顶作用(culmination)形成子实体(fluiting body)，前部细胞向上举起分化为柄(后死亡)，后面的细胞移向上方，分化为孢子(图 16－44)。如果把将形成柄的前部细胞切掉，那么后部原应分化为孢子的细胞亦可形成柄。这说明前后部细胞的分化命运是可以调节的。

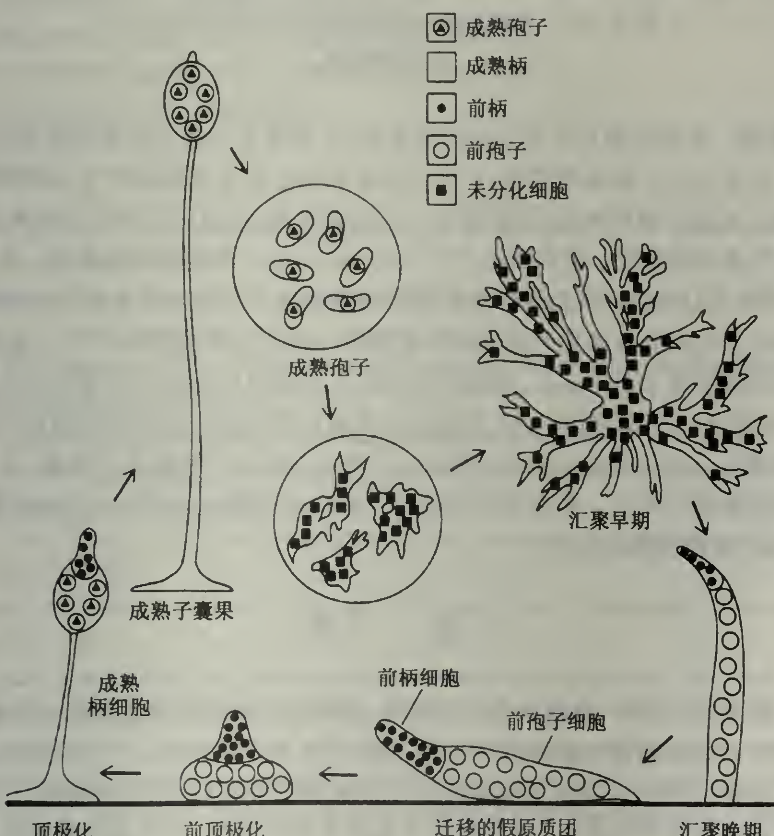


图 16－44　黏菌(*Dictyostelium discoideum*)发育和生活史，示假原质团分化出孢子和柄
（引自 Gregg　1971）

由此可见，假原质团的关键变化，是分化出柄和孢子两种细胞。经分析，前柄区中含有三种细胞，即 pstA、pstAB 和 pstO；前孢子区含有前孢子细胞和 pstO/ALC (anterior-like cell)。在前柄区与前孢子区交界处尚有一部分 pstB 细胞，将形成子实体的基盘(图 16－45)。

前柄细胞有两个为细胞外基质编码的基因(*ecmA, ecmB*)表达，但各种细胞的表达种类和强度有所不同。pstA 前柄细胞分布在蛞蝓体前柄区的前半部，表达 *ecmA* 基因很强，而分布在前柄区后半部的 pstO 细胞，*ecmA* 基因表达则很弱。pstAB 细胞集中在尖端的一个类似漏斗的区域中，它们既表达 *ecmA* 基因，也表达 *ecmB* 基因。pstB 细胞集中在前柄区与前孢子区交界处，只表达 *ecmB* 基因。在顶极化阶段，前柄 B 细胞下

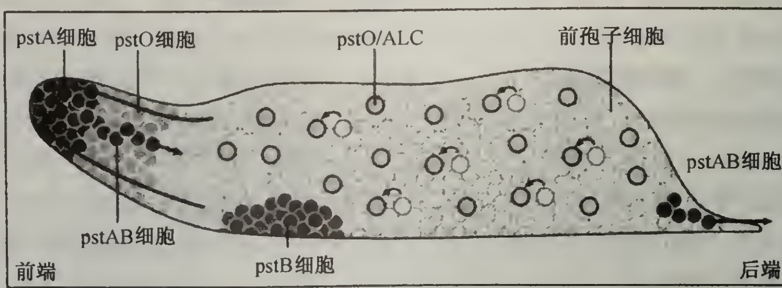


图 16－45　黏菌蛞蝓体各种细胞的分布(说明见正文)
Pst 为前柄细胞

移,形成基盘。各种细胞在位置上的定位分布,可能是由一种分拣机制控制的。前柄 A 细胞的分化发生在汇聚体的边缘,它们只有在分化之后才向前端集中。有实验表明,如果把前柄 B 细胞从前端取出,注射到另一个蛞蝓体内,它们还是要向前端集中。各类细胞可以发生流动和转变,例如前孢子区中的 pstO/ALC 细胞前移到前部,先变为 pstO 细胞,后变成 pstA 细胞,从而使各种类型的细胞保持一定的比例关系。经研究表明,前孢子细胞的分化需要有细胞外的 cAMP 的刺激,cAMP 可诱导前孢子专一基因表达,合成糖原合成酶激酶 3(glycogen synthase kinase-3, GSK-3),GSK-3 能促进前孢子细胞的分化,介导孢子的形成,但对 pstB 细胞的分化有阻滞作用。发育中的细胞可分泌一种分化诱导因子(differetiation-inducing factor, DIF),DIF 是一种氯化己苯酮,它可诱导前柄细胞和柄细胞的分化。在有 DIF 存在时,cAMP 可刺激 pstA 和 pstO 细胞的分化,但可抑制 pstB 前柄细胞的分化。

提　　要

在个体发育过程中,细胞后代产生形态、结构和功能差异的过程称为细胞分化。细胞分化的本质是细胞发生基因差别表达。细胞的基因活动和表达产物模式决定了细胞的性能。根据植物细胞培养,分化细胞的细胞核移入受精卵,以及细胞融合实验表明,细胞的遗传物质并没有丢失,细胞核的全能性也没有丧失,基因的差别表达是由细胞质提供的因子决定的。虽然动物体内细胞的分化状态是稳定的,但在某些情况下分化是可反转的,例如在再生过程中,一种分化细胞可转分化成另一种细胞。分化细胞的基因活动模式可长期保持,也能传递给细胞后代。基因活动模式的维持涉及到几种机制,如基因调节蛋白的作用、染色质包装状态的变化、DNA 的化学修饰等。

细胞分化的关键是转录调控。真核细胞的细胞专一基因表达依赖于基因调控区的启动子和增强子序列。不同的调节蛋白的组合作用决定了基因是否活动。有的细胞只是由于转录蛋白的正确组合即决定了细胞专一基因表达;也有的细胞由于基因发生折叠,使转录因子和 RNA 聚合酶无法同基因结合。基因调节蛋白对基因的调控不仅是直接与 DNA 相互作用,而且调节蛋白本身之间也发生相互作用,形成转录复合物,启动转录。类固醇激素的受体是在细胞内,二者结合成复合物,再同 DNA 的专一调控成分结合,引起组织专一基因表达。信号蛋白的受体则在质膜上,二者结合后激活细胞内的信号转导途径,引起基因表达发生改变。

转录因子的组合调控细胞分化,而且基因表达受细胞外信号的影响。有些转录因子可对多种细胞起作用,而有的则只对特定的基因表达有效,如在肌肉分化过程中,*myoD* 基因在细胞外信号的作用下表达,启动了肌肉分化程序。*myoD* 基因的表达产物是转录因子,可同肌肉专一基因的调控区结合,影响转录。

细胞分化除了受转录水平的调节外,还要受翻译水平的调节。对细胞分化的影响因素有多种,既有细胞外信号,也有细胞间的相互作用。

复习思考题

1. 细胞分化的本质是什么?怎样理解细胞的核质关系?
2. 为什么说转录调节是细胞分化的关键?转录调节都有哪些方式?
3. 细胞外信号怎样影响细胞分化?结合细胞内信号转导进行分析。
4. 转录因子与基因相互作用的方式有哪些?

主要参考文献

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J. *et al.* , 1994. MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL. 3rd ed. Garland publishing, Inc., New York & London, 1139 ~ 1187

Alberts, B., BRAY, D., Johnson, A. *et al.* , 1998. ESSENTIAL CELL BIOLOGY — An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc. New York & London, 267 ~ 272

Bhattacharya, S. K., Ramchandani, S. & Cervoni, N. , 1999. A mammalian protein with specific demethylase activity for mCpG DNA. Nature, 397(6720): 579 ~ 583

Blau, H. M., Baltimore, D., 1991. Differentiation requires continuous regulation. J. Cell Biol. 112: 781 ~ 783

Gilbert, S. F. 1994. Developmental Biology. 4th ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, 371 ~ 434

Higgs, D. R. 1998. Do LCRs open chromatin domains ? Cell, 95(3): 299 ~ 302

Kadonaga, J. T. 1998. Eukaryotic transcription: An interlaced network of transcrition factors and chromatin-modifying machines. Cell, 92: 307 ~ 313

Kou, C. J., Conley, P. B., Chen, L., *et al.* 1992. A transcriptional hierarchy involved in mammalian cell-type specification. Nature, 355: 457 ~ 461

Morrison, S. J., Shah, N. M., Anderson, D. J. , 1997. Regulatory mechanisms in stem cell biology. Cell, 88: 287 ~ 298

Metcalf, D. , 1991. Control of granulocytes and macrophages: molecular, cellular, and clinical aspects. Science, 254: 529 ~ 533

Novitch, B. G., Mulligan, G. J., Jacks, T. *et al.* , 1996. Skeletal muscle cells lacking the retinoblastoma protein display defects in muscle gene expression and accumulate in S and G_2 phase of the cell cycle. J. Cell Biol. 135: 441 ~ 456

Ogino, H. & Yasud, K., 1998. Induction lens differentiation by activation of a bZIP transcription factor, L-Maf. Science, 280(5360): 115 ~ 118

Olson, E. N., Arnold, H. H., Rigby, P. W. *et al.* , 1996. Know your neighbours: three phenotypes in null mutant of the myogenic bHLH gene MRF4. Cell, 85: 1 ~ 4

Orkin, S., 1996. Development of the hematopoietic system. Curr. Opin. Genet. Dev. , 6: 597 ~ 602

Patterson, P. H., 1990. Control of cell fate in a vertebrate neurogenic linage. Cell, 62: 1035 ~ 1038

Pevny, L., Lin, C. S., D'Agati, V. *et al.* , 1995. Development of hematopoietic cells lacking transcription fator GATA-1. Development, 121: 163 ~ 172

Saito, H., Kanamori, Y., Takemori, T. *et al.*, 1998. Generation of intestinal T cells from progenitors residing in gut cryptopatches. Science, 280(5361): 275 ~ 278

Shah, N. M., Groves, A. K., Anderson, D. J., 1996. Alternative neural crest cell fates are instructively promoted by TGF-β super family members. Cell, 85: 331 ~ 343

Tijan, R., 1995. Molecular machines that control genes. Sci. Amer. , 2: 338 ~ 344

Wilmut, I, . Schnieke, A. E., McWhir, J. *et al.*, 1997. Viable offspring derived from adult mammalian cells. Nature, 385: 810 ~ 813

Wolpert, L., Beddington, R., Brockes, J. *et al.*, 1998. PRINCIPLES OF DEVELOPMENT. Current bioogy Ltd & Oxford university press, London, New York, 269 ~ 320

第十七章

个体发育的细胞与遗传活动

前一章我们从细胞水平介绍了细胞分化的机制和分化细胞的特征。但是需要指出的是，在多细胞生物的生长发育过程中，细胞分化不是单个细胞的孤立变化。随着细胞分化，细胞间发生了相互作用，形成了组织，建成了器官。因此，细胞分化是个体形态建成运动不可缺少的组成内容。特别是由受精卵发育为成体的体型模式形成(pattern formation)过程是离不开细胞分化活动的。所谓的模式形成即是指在胚胎发育中，分化细胞按一定秩序形成具有物种特征的特定空间布局的过程。关于体型的模式形成历来就是科学家所关注的生物学焦点问题，看来似乎甚为简单的受精卵为什么会长成有头有尾的完整个体？而且在一定的空间部位长出了特定的结构？

一、先成论与渐成论

对于上述问题的解释可追溯到几百年以前，早在17世纪即有先成论(preformation theory)与渐成论(epigenesis)之争。公元前3世纪，希腊哲学家 Aristotle(384 - 322 B.C.)即认为胚胎的结构是逐渐发生的，可谓是渐成论的先声。17世纪意大利胚胎学家 M. Malpighi 曾对鸡胚的发生过程做过细致的观察，但他却一反自己所观察到的胚胎发育现象，而主张在发育的最早阶段即已存在着鸡的胚胎，只不过是它的各部分结构太微小了，即便是利用最精密的显微镜也无法看清，提出了先成论的观点。有一些主张先成论的学者认为，胚胎存在于性细胞中，有的甚至具体化到描绘出精子头部里蛰伏着一个蜷曲的"小人"(图17 - 1)。至18世纪，两种观点的争论愈加激烈。后来德国胚胎学家 K. F. Wolff(1767)也对鸡胚的发育做了认真观察，他没有看到鸡胚中有成体各个部分的对应结构。当时由于尚没有提出细胞学说，虽然两种观点都具有机械唯物论的色彩，但基本上是属于推论性的。直到20世纪后期，这一争论才逐渐明朗化。然而对两种观点如何评价，请读者阅读本章后作出自己的判断。



图17 - 1　有的先成论者认为精子头部中有一个卷曲蛰伏着的小人
（自 Nicholas Hartsoeker　1694）

本章主要是根据目前的研究成果，介绍多细胞生物由受精卵发育为成体过程中，胚胎细胞相互作用和组织专一基因表达在体型模式形成中的作用机制。E. B. Wilson(1856 ~ 1939)曾倾毕生精力试图将发育与细胞和遗传三者结合起来，而在当时的学术水平和技术条

件下要做到这一点有一定的困难，只有在今天，Wilson 的理想才真正得以实现。

二、早期实验胚胎学家对卵子的认识

从 19 世纪末到 20 世纪上半叶，实验胚胎学家对卵子的结构和发育潜能作了大量的形态学研究。学者们发现，卵子的结构与胚胎发生模式有着密切的关系。根据胚胎发育形式，可将卵区分为镶嵌型卵（mosaic eggs）和调整型卵（regulative eggs）两种类型。认为，镶嵌型卵具有明显的决定子定位域，如海鞘、软体动物等（见第十一章细胞分化）；调整型卵则不具有这种形态发生决定子的定位分布，如两栖类卵，2 细胞胚胎的每一个裂球都可发育为一个完整的正常个体。

但是，后来发现，这样划分的两类卵并不是绝对的，也就是说，有的动物卵在一定条件下按镶嵌型发育，而在另外条件下则会按调整型发育。因此，合子卵裂后的发育命运要受周围条件的影响。

早期胚胎学家的重大贡献，是证明了卵子的卵质不是匀质的，而是有一定结构和区域异质的。这就引导学者关注早期胚胎发育中，裂球的发育命运和细胞谱系（cell linage）的追踪研究（图 17-2）。在这方面对软体动物、线虫、海鞘、文昌鱼、鱼类和两栖

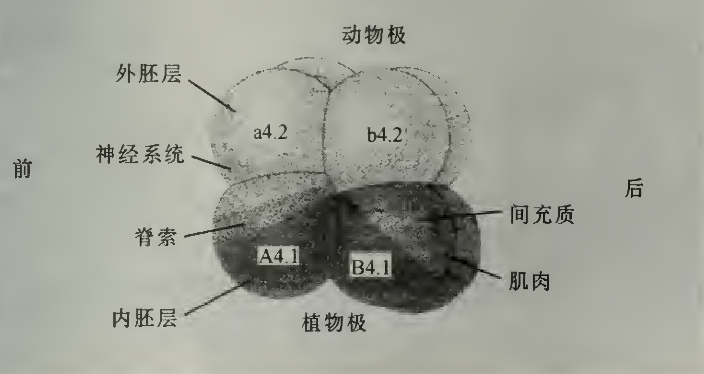


图 17-2　海鞘裂球的细胞谱系

受精卵经第一次卵裂后产生两个裂球分别标为 AB 和 CD，图中示 AB 裂球在第二次卵列以后的细胞谱系

动物做了大量研究，特别是对两栖类研究得最为深入，绘制出了早期胚胎发育命运图（fate map）（图 17-3）。

我国著名的实验胚胎学家童第周教授，对文昌鱼的胚胎发生做了系统的研究，在国际上领先发表了文昌鱼的发育命运图（图 17-4）。他被国际上公认为是研究文昌鱼发育的权威学者（图 17-5）。

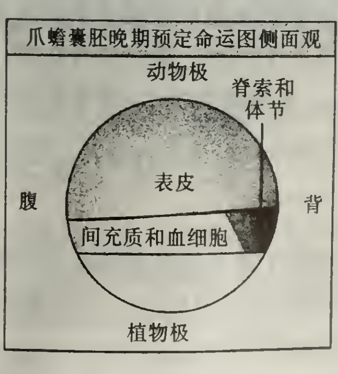


图 17-3　两栖类早期胚胎发育命运图

早期实验胚胎学家虽然对胚胎发育的许多重大问题已有所关注，但由于受实验手段和学科发展水平的限制，对个体发育机制的认识上比较肤浅。他们

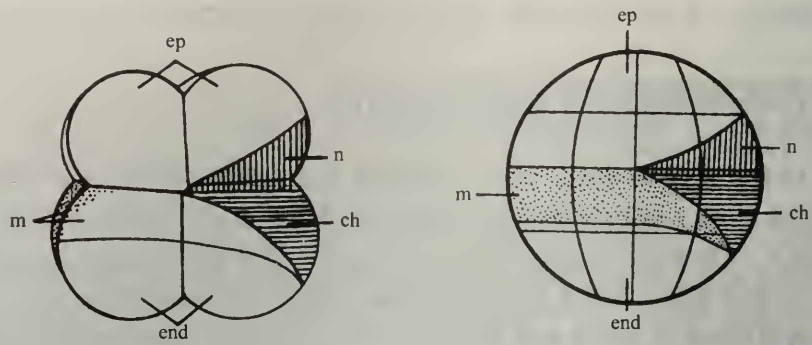


图 17-4　青岛文昌鱼(*Branchiostomata belcheri*)8 细胞时期(左)和 32 细胞时期(右)预定器官形成物质分布图(童第周等　1960)

ch. 脊索;end. 内胚层;ep. 表皮;m. 中胚层;en. 神经外胚层



图 17-5　童第周教授和夫人叶毓芬教授在实验室工作

倾向于认为，在细胞核与细胞质的相互作用中，细胞质对活动具有控制作用，而对核的作用认识不足。

尽管如此，早期实验胚胎学家对发育生物学的发展做出了重大贡献，提出了卵子结构与早期胚胎发育模式的关系这样的发育生物学关键问题，为发育生物学后来的发展预示了方向。有的学者认为，'现代科学是用现代技术手段去解决过去提出的老问题'。在有些问题上，看来是如此。

第一节　卵子的发生和空间结构的建成

动物个体发生虽然是从受精卵（合子）开始，然而胚胎开始发育与卵子的形成和卵子的结构密切相关，因而研究个体发育的细胞和遗传活动不能不从卵子发生(oogenesis)开始。

一、卵的基本形态

(一) 卵子的大小

动物卵外形呈卵圆形或球形,少数呈长条形,如果蝇的卵。各种动物卵的体积差别很大,鸟类的卵直径大约几个厘米,两栖类的为 1～2mm,而哺乳动物的则只有 0.1mm 左右。卵子体积的大小与成体动物的大小没有必然的比例关系,而与胚胎的生存环境有关。一般说来,胚胎在母体中孕育的哺乳动物,卵子很小,胚胎在体外发育的动物,卵子比较大。

(二) 发生过程

正在发育过程中的卵称为卵母细胞 (oocyte)。卵母细胞的发生是从卵原细胞(oogonia)开始,卵原细胞经过几次有丝分裂,并生长和分化成初级卵母细胞(primary oocyte)。在此阶段中,卵母细胞合成了一些重要物质成分,如核糖体、卵黄、糖原、脂类和 mRNA。其中有些 mRNA 指导合成将来在早期胚胎发育中所需要的蛋白质。初级卵母细胞经第一次减数分裂,产生了一个次级卵母细胞(secondary oocyte),一个小的极体(polar body)。

动物性成熟后,卵母细胞进入了下一个发育阶段,此阶段称为卵母细胞成熟(oocyte maturation)。再经减数分裂Ⅱ,次级卵母细胞分出了成熟的卵和一个小的第二极体。于是初级卵母细胞经过减数分裂,产生了一个卵子和三个极体(图 17-6)。

成熟卵的外面一般包有卵膜,各种动物的卵膜差别很大。哺乳动物卵的外面包有一层透明带(zona pellucida);鸟类、爬行类和昆虫等卵外面包有硬壳。

二、卵的极性

成熟卵的细胞质中物质分布不均匀,从而表现出卵具有极性(polarity),极间的假想连线称为卵轴(egg axes)。例如,两栖类的卵,上部细胞质溶质集中,表面高度色素化,呈黑色;而下部卵黄(yolk) 集中,无色素,呈白色。于是将上下部的两个顶端称为极,卵的下部与消化器官的发生有关,称为植物极 (vegetal pole),上端称为动物极(animal pole)。卵的上半部为动物半球,下半部为植物半球。两极之间的假想连线称为动物极 - 植物极轴(animal-vegetal ases),简称为 A-V 轴。

果蝇卵与两栖类的不同,呈长条形,分为前后端。前端有一个小的突起,是为卵孔(micropile),是精子入卵的部位。因此,果蝇的卵分前后极,两极间的卵轴称为前后轴(anterior-posterior axes),简称为 A-P 轴。

卵细胞质中有些物质有一定的轴性分布,这些物质有的是卵母细胞的自身产物,有的则是周围细胞提供的。为这些物质编码的基因称为卵极性基因 (egg-polarity genes)。这些基因编码的蛋白质对其他基因的表达有调节作用,因而卵极性基因的活动为卵和早期胚胎建立了基因调节蛋白的轴性分布等级,不同卵轴具有不同物质的梯度。在果蝇卵中有两组卵极性基因,分别决定卵的前后轴和背腹轴 (dorsal-ventral

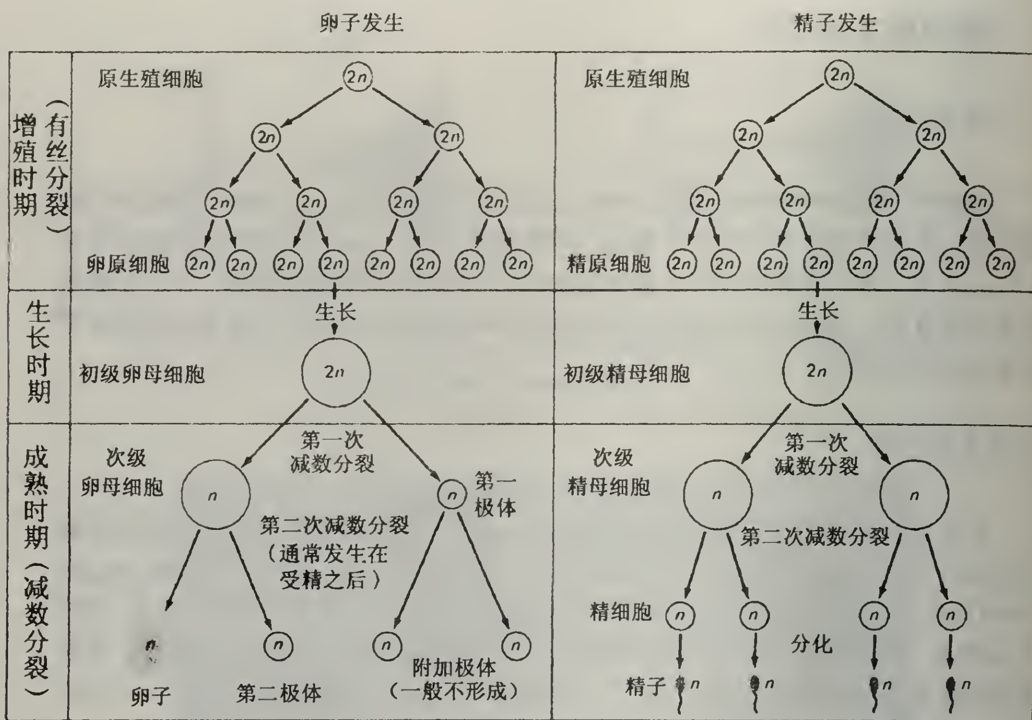


图 17－6　高等动物卵子和精子发生过程图解

n 代表染色体数

axes, A-V 轴)。决定前后轴发育的卵极性基因,现已查明的有 21 个,分为 3 群,分别决定不同部位的发育。前部群决定前部的发育,有 4 个基因;决定后部发育的后部群有 11 个基因;端部群有 6 个,决定两端的发育。

果蝇卵从卵巢中一排出，即具有了明确的物质空间定位分布和有秩序的卵质结构。例如, *bicoid* mRNA 定位在前端, *nanos* 和 *caudal* mRNA 定位于后端, torso 蛋白的配体则定位于前后两极的卵黄膜(vitelline envelope)中。另外,还有许多 mRNA 和蛋白质,如 Toll, torso, dorsal, 和 catus 蛋白质则均匀分布。

然而蛙胚的极性则与卵轴不完全一致,究竟在何处形成头部,要在受精后胚胎的背腹轴确定之后才能确定下来。蛙胚背腹轴的确定与精子入卵的位置有关,精子是在动物极区入卵。受精引起卵皮层发生旋转,皮层(含有肌动蛋白丝的凝胶层)向着精子入卵部位旋转 30°，与精子入卵位置相对部位的皮层转到动物极。由于皮层旋转(cortical rotation)，在精子入卵部位相对的植物极区内形成了一个信号中心，称为 Nieuwkoop 中心 (Nieuwkoop center)(其发现者为德国胚胎学家 Pieter Nieuwkoop，故名)。Nieuwkoop 中心确定了囊胚的背腹轴(图 17-7)。在受精后的早期, Nieuwkoop 中心即发挥作用,第一次卵裂面即是沿精子入卵点和 Nieuwkoop 中心产生,从而将卵分为左右两半,决定了动物体的左右对称。第二次卵裂面与第一次垂直,将卵分为背腹两半,含有 Nieuwkoop 中心的为背半,将发育为胚胎的大部分结构,而另一半为腹半,发育为胚胎的腹部结构。由此可见, Nieuwkoop 中心发出信号诱导胚胎发育出全部的背部和前部结构(图 17－8)。

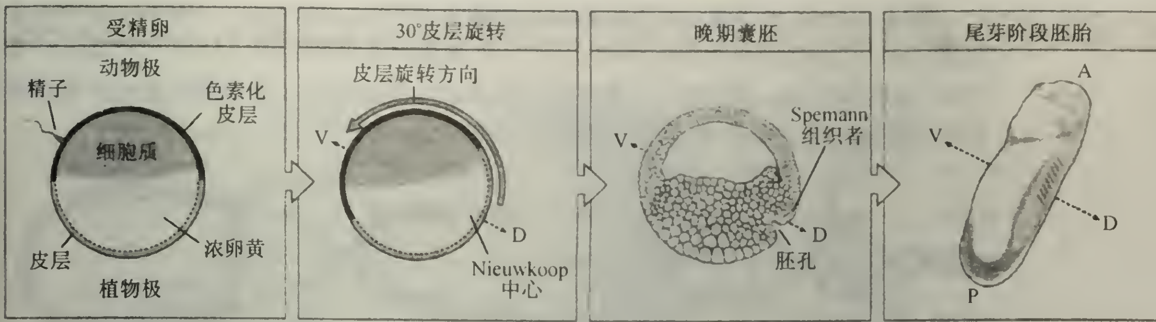


图 17－7 两栖类胚胎在精子入卵的对面形成背侧

示皮层旋转形成 Nieuwkoop 信号中心，此中心决定了胚胎的背侧。恰在其上方产生了 Spemann 组织者和胚孔，于是胚胎的背腹轴、前后轴和左右轴就确定了下来

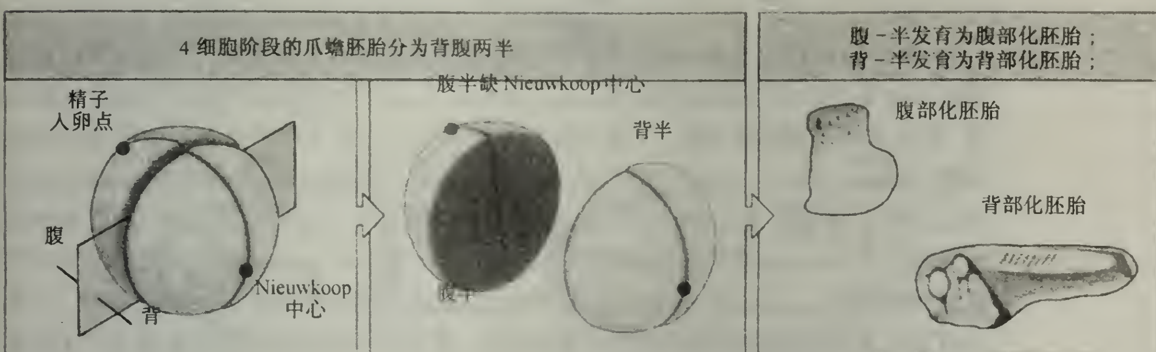


图 17－8 Nieuwkoop 中心在胚胎形成胚轴中的作用示意图

爪蟾在 4 细胞阶段分成背腹两半，背半中含有 Nieuwkoop 中心，可发育成缺少肠管的背部化胚胎；而腹半无 Nieuwkoop 中心，可发育成既无头部，也无背部的腹部化结构

在囊胚阶段，Nieuwkoop 中心的正上方产生 Spemann 组织者（organizer）和胚孔。Spemann 组织者产生于囊胚末期，预示原肠作用的开始，它是由细胞组成的一个区域，也是一个信号中心，它发出的信号可诱导胚胎的前后轴和背腹轴的各种结构和中枢神经系统的模式形成。胚孔则是原肠作用开始时，细胞内陷部位形成的结构。

各类动物的胚轴，建立的机制有所不同。如鸡胚的背腹轴和前后轴的建立与卵黄的位置和地心引力有关。小鼠的胚轴则决定于细胞间的相互作用。

三、果蝇卵极性建立的机制

对果蝇在卵子发生过程中卵形成的机制研究得最为清楚。卵轴的建立是卵母细胞和滤泡细胞（follicle cells）共同相互作用的结果。

果蝇卵的发育是在原卵区（germarium）中开始的。原卵区相当于卵巢，其一端含有干细胞。一个干细胞经 4 次有丝分裂，产生了 16 个细胞，其中一个形成卵母细胞，其余 15 个发育成营养细胞（nurse cells）。这 16 个细胞周围包有一层滤泡细胞鞘，构成了卵室（egg chamber）。滤泡细胞对卵轴的形成起着重要作用，各种滤泡细胞表达不同的基因，对卵母细胞发生不同的影响。此外，滤泡细胞还分泌卵膜和卵壳物质。

卵室中的 16 个细胞，相邻细胞间有细胞质桥相连。其中有一个细胞与另外 4 个细胞相连，此细胞发育为卵母细胞，另外 4 个细胞形成营养细胞。卵室从卵原区向外突出，后继续长出一些卵室，这些卵室在极端相互连接成串。营养细胞通过细胞质桥向卵母细胞运送营养物质，供卵母细胞生长(图 17－9)。

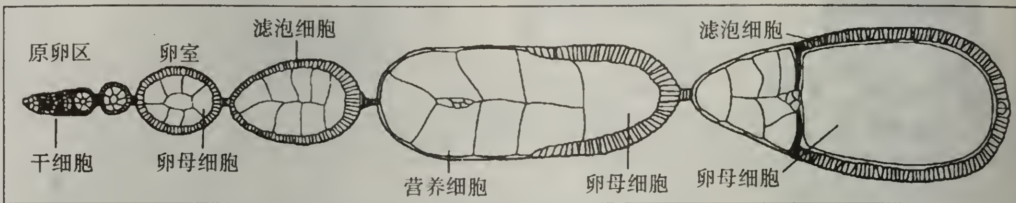


图 17－9　果蝇的卵子发生示意图

示连续产生的卵室在极端仍彼此相连，营养细胞通过细胞质桥向卵母细胞供应养料，滤泡细胞在卵子结构形成中起着关键的作用

卵母细胞在卵室中向一侧迁移，从而得以同滤泡细胞直接接触，于是诱导接触到的滤泡细胞命名为后滤泡细胞(posterior follicle cells)。卵母细胞的前方存在有营养细胞，故不能与滤泡细胞接触，于是与后滤泡细胞相对应的一端的滤泡细胞成为前滤泡细胞(anterior follicle cells)。这时，卵母细胞的核处于细胞后端，并在此处 *gurken* 基因表达合成了 gurken 蛋白，向外分泌。gurken 蛋白属 TGF-α 生长因子家族。后滤泡细胞的质膜上有 *torpedo* 基因编码的跨膜蛋白，torpedo 蛋白是 gurken 蛋白的受体，具有酪氨酸激酶活性。gyrken 蛋白与 torpedo 蛋白结合，使滤泡细胞特化为后滤泡细胞。后者反过来发送出能识别卵母细胞的微管的信号，诱导微管顺前后方向重新排列。这种重新装配排列有助于 *bicoid* mRNA 定位于前端；同样，从营养细胞运送到卵母细胞中的 *oskar* mRNA 则移向后端，确定后端生殖质(germ plasm)，产生生殖细胞。*Nanos* mRNA 和 *cyclin B* 也定位于后端。这样便确定了卵的前后轴。*Bicoid* mRNA 定位于前端须要有几种母体基因的作用，例如 *exuperantia* 基因和 *swallow* 基因。有实验证明，母蝇如果缺失 *exuperantia* 基因，则 *bicoid* mRNA 会遍布全卵。但也有实验证明，*bicoid* mRNA 定位于前端与 *bicoid* mRNA 核苷酸序列中的 UTR 区有关，UTR 区是存在于 mRNA 的编码翻译序列与 3′多(A)尾之间的非翻译区(untranslated region)。如果将 *bicoid* mRNA 的 UTR 区切除，也会导致 *bicoid* mRNA 分散到全卵。据初步实验证明，这些母体因子在卵子中的定位分布是 *exuperantia* 基因和母体 mRNA 的 3′UTR 区配合作用的结果。例如，*bicoid* mRNA 之所以定位于卵母细胞的前端，是由于 *exuperantia* 基因编码的蛋白质可介导 *bicoid* mRNA 的 3′UTR 区与前端微管相结合。

卵背腹轴的建立也与卵母细胞同滤泡细胞的相互作用有关。卵母细胞后端确定之后，卵母细胞核沿微管经背方前移，在细胞前缘，核再次表达 *gurken* 基因。这时，在核所处部位分泌的 gurken 蛋白作为一种信号作用与位于卵母细胞一侧近邻的滤泡细胞，使其特化为背滤泡细胞，远离核的对侧方滤泡细胞特化为腹滤泡细胞。副滤泡细胞合成的蛋白质沉积到腹卵黄膜上。背滤泡细胞和腹滤泡细胞分别在不同侧面对卵母细胞的反馈作用，决定了卵子的背腹轴。

由此可见，gurken 蛋白是通过与各组滤泡细胞相互作用，使两条卵轴极化（图 17－10)。

综上所述，果蝇卵母细胞卵轴的极化过程可概括为：

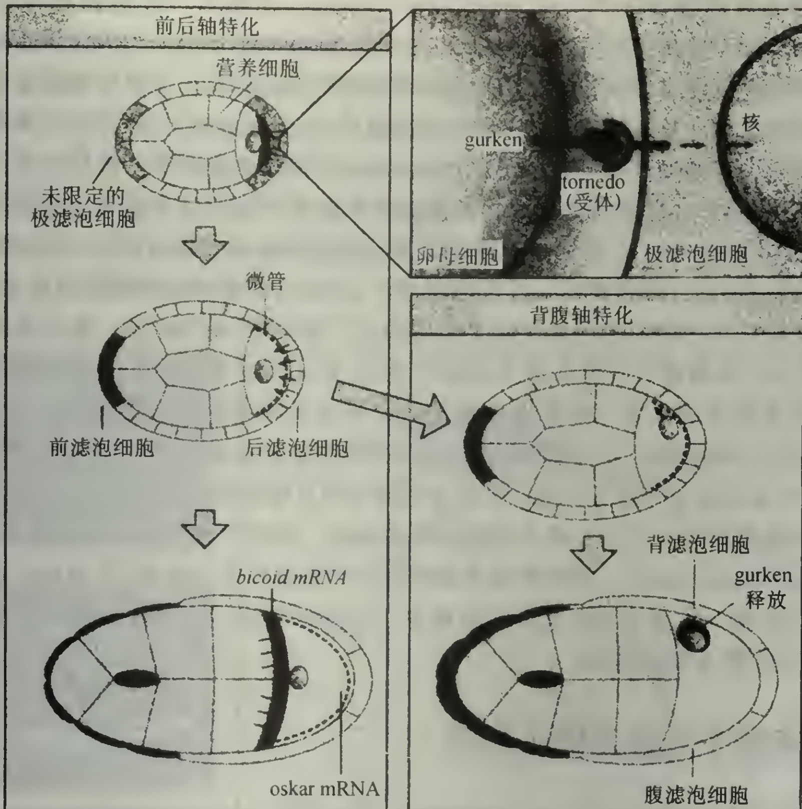


图 17－10　果蝇卵子发生中前后轴和背腹轴决定的机制示意图

示卵母细胞与不同部位的滤泡细胞相互作用，决定了前后轴和背腹轴，原理说明见正文

（自 Gonzàles-Reyes, A. 1995）

前后轴

卵母细胞移向滤泡后端

↓

卵母细胞 gurken 蛋白通过 torpedo 诱导后滤泡细胞

↓

后滤泡细胞发出后部信号，诱导卵母细胞的细胞骨架重组 → 核后移

↓

bicoid mRNA 定位于前端：*oskar* 和其他 mRNA 定位于后端

背腹轴

核后移

↓

卵母细胞 gurken 诱导后滤泡细胞

↓

腹滤泡细胞向卵母细胞卵膜沉积腹蛋白

端部

卵两端的滤泡细胞向卵膜中沉积 torso 蛋白的配体

卵极性基因产物都是在卵子发生过程中由母体基因组的基因转录产生，有些产物在受精后发生作用，为了与受精后合子基因组中开始表达的基因区别起见，特将前一些基因称为母体效应基因（maternal effect genes），而将后一些基因称为合子基因(zygotic genes)。母体效应基因配合活动，在卵和胚胎中建立了一些对合子基因表达有调节作用的物质梯度，这些物质依靠空间浓度梯度诱发对其一定浓度阈值发生反应的细胞定向发育和分化，这类物质称为形态发生素（morhpogens）。形态发生素诱导细胞向不同方向分化的浓度有不同的阈值(thresholds)，如果细胞对同一种信号分子有几种反应阈值，那么一种形态发生素可调节细胞发生几种不同的反应模式。例如中胚层诱导因子激活素（activin），它的不同浓度时对爪蟾胚胎的诱导效应即不一样，浓度低时诱导细胞形成表皮，浓度稍高一点时则诱导产生肌肉，浓度再高时则诱导产生脊索。

在胚胎发育过程中起形态发生素作用的因子有多种，有 mRNA、蛋白质和其他物质（如全反式视黄酸——维生素 A 的衍生物）。形态发生素对胚胎的整体和局部的模式形成起着重要的作用。形态发生素的浓度梯度是向细胞提供位置信息（positional information）的普遍方式。所谓位置信息，是指细胞根据其所在的位值所获得的位置标志信息，信息通过信号分子传递。形态发生素可用其浓度梯度提供位置信息。实际上，位置信息也就是用分子信号确定细胞的所在地址。细胞对位置信息的内在记录，称为位置值(positional value)。细胞根据其遗传程序对位置值进行解译，从而按位置参与结构的模式形成。具有相同位置值的细胞在不同的环境中，可对位置值进行不同的解译，以不同的模式形成结构。

四、母体因子与胚胎模式形成

上面介绍的内容说明，由于母体基因的活动，形成了母体因子的极性分布，建立了卵轴。在卵子发生过程中，母体基因的表达产物——母体因子（蛋白质和 mRNA）在卵中形成了定位空间分布和配置，影响着后来的早期胚胎发育。母体因子有秩序地启动合子基因表达，诱发个体发育进入了胚胎模式形成阶段。

由此可见，卵极性的建立直接影响着胚胎的模式形成（pattern formation）。生物个体和器官都具有特定的结构形态，这就是所谓的模式（或译作图式）(pattern)。模式形成是一个专业术语，它是指在胚胎发育中，细胞获得个性(identity)的过程，细胞的个性决定细胞按一定的空间模式进行活动，最后形成特定的形态结构。

卵的空间结构的建立，便为受精后的胚胎发育框架的建立奠定了最基本的基础。下面我们将以果蝇为轴线，介绍胚胎发育的模式形成。

第二节　果蝇个体发育的基本过程

无脊椎动物种类繁多，研究较多的实验材料有软体动物、线虫、海鞘、昆虫等。在所有发育系统中，了解最清楚的是果蝇，下面我们以果蝇为例对其发育模式作一系统介绍。虽然果蝇是无脊椎动物，但其发育的遗传基础与脊椎动物有许多共同之处，因此对果蝇的介绍亦有助于对脊椎动物发育遗传基础的理解。

一、果蝇的生活周期

果蝇为双翅目昆虫，躯体分节，身体结构具有昆虫的基本特征，如有 2 翅，6 足，2 触角。外形与家蝇基本相同，但体型很小，实验用果蝇的体长仅约一个多毫米。果蝇繁殖速度快，在 21℃下一个世代仅为两周，一只雌蝇 10 天即可产 500 余个卵。果蝇的染色体只有 4 对，且比较大，易于观察。果蝇的发育过程具有昆虫的典型特征。恰恰由于果蝇具有这些优点，因此果蝇便成了遗传、发育和细胞学研究的最主要的实验材料之一。

果蝇卵的大小约为 0.2mm × 0.45mm。果蝇由卵发育为成虫果蝇大体上要经过四个阶段：卵、幼虫、蛹和成虫（图 17 - 11）。

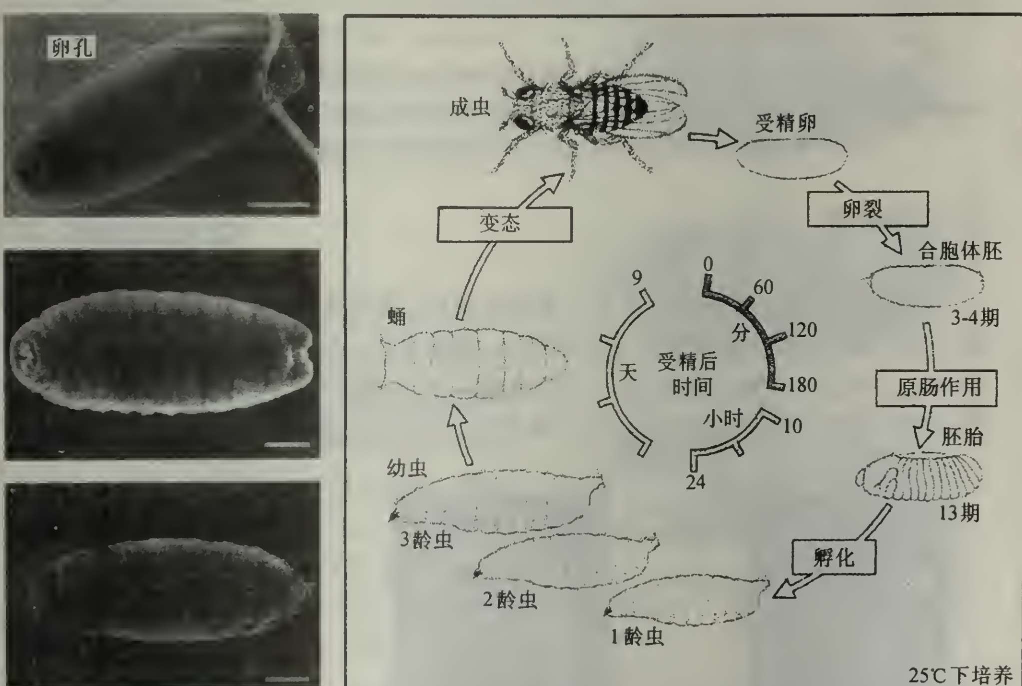


图 17 - 11　果蝇个体发育过程和主要阶段（在 25℃下培养）

二、果蝇的早期胚胎发生

（一）卵裂

果蝇卵呈长椭圆形，类似于香肠状。前端有一小突起，上有卵孔，精子经卵孔入卵。受精后精卵核融合成合子核，合子核进行若干次有丝分裂。最初，核在卵的中央区进行分裂，每 8 ~ 9 分种分裂一次，约在产卵后 80 分钟时，核数达 256 个。此后核向卵的边缘迁移，有丝分裂逐渐减慢。果蝇的卵裂方式十分特殊，在核分裂过程中细胞质不分裂，胚胎为合胞体，故称为合胞体胚（syncytial blastoderm）。约在 2.5 小时时，核数

达 1024 个，这时全部迁移到卵边缘。核经 12～13 次分裂，达 6000～8000 个，这时卵质膜向内凹陷，将核包围，从而形成了细胞胚（cellular blastoderm）。在核向边缘迁移时，约有 15 个核移向卵的后端，不参加细胞胚盘的形成，而形成了极细胞（pole cells），这些细胞将分化成性细胞。细胞胚中，细胞围绕中央卵黄在卵边周排成单层，相当于其他动物的囊胚（图 17－12）。

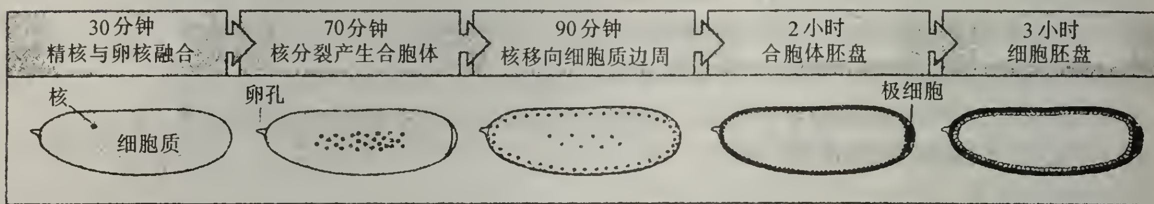


图 17－12　果蝇胚胎的卵裂和细胞胚盘的形成

卵受精后，精卵核融合成合子核。合子核经 9 次分裂后移向卵的边周，形成了合胞体胚胎。约在 3 小时后，形成细胞胚盘。在卵的后端约有 15 个细胞组成单独的一群，将分化成性细胞

(二)原肠作用

受精后 3 小时，原肠作用开始。原肠作用时，首先是胚胎区分为内、中、外三胚层。约由 1000 余个细胞构成的预定中胚层。在腹中线（ventral midline）处内陷，形成腹沟（ventral furrow）。腹沟继续内陷，与表面脱离，形成腹管（ventral tube）。随后，腹管变扁，在腹外胚层下方形成一层中胚层，将分化为肌肉和其他结缔组织（图 17－13）。



图 17－13　胚胎进行原肠作用时的表面形态变化

(A)细胞向腹中线迁移，形成腹沟；(B)腹沟内陷；(C)极细胞和后端内胚层向胚内迁移时的胚胎背面观（自 Turner, F. R.　1994）

中胚层内陷不久，腹区外胚层细胞内陷，脱离表面，在中胚层与外胚层之间单独形成一层神经母细胞（neuroblasts）。与此同时，腹沟的前端和后端的预定内胚层均向内

凹陷成囊，二者融合后，发育为内胚层中肠(图 17－14)。当内胚层囊继续内陷时,将其后面的外胚层随之牵拉进胚胎内部,分别形成了前肠和后肠。至此,胚胎外面的外胚层便形成了表皮。

这时，胚胎表面细胞向腹面中线迁移，并内陷形成胚带（germ band)。胚带不断向后延伸,伸向背面,并向前折返。不久,胚带收缩,胚带的后端形成了胚胎的最后端结构(图 17－15)。此时胚胎发生分节现象,产生了副节(parasegments)。此后,胚胎随之分化出成虫的器官原基——成虫盘（imaginal discs)。

原肠作用完成后的胚胎结构,大体上与成虫各部形成了对应关系(图 17－16)。

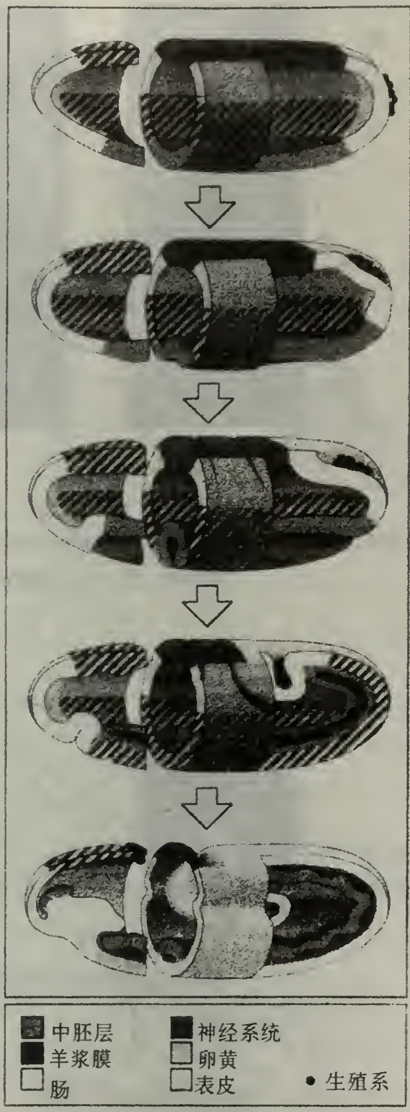


图 17－14　腹沟的前后端内陷发育为内胚层中肠

三、幼虫的发育

受精后 24 小时,幼虫孵出。在孵出前几小时幼虫躯体已出现分区,头区最前部的相关结构称为原头区（acron)，最后端的结构称为尾节（telson)，二者之间显现出 3 个胸节和 8 个腹节。每个节的腹面有齿带。随着幼虫的生长,经脱皮丢弃了表皮。幼虫要经过两次脱皮,故分为 1、2 和 3 龄幼虫。

果蝇的幼虫既无翅，也无腿。3 龄幼虫之后,在激素的刺激下,幼虫变态时生出翅、腿和其他器官。然而,实际上在幼虫阶段这些器官即以成虫盘的形式存在。早在细胞胚盘进行原肠作用时,一些小片的预定表皮细胞（每个约 40 个细胞）内陷，形成成虫盘。在整个幼虫阶段,成虫盘都折叠成上皮囊存在。成虫盘包括有 6 个腿盘、2 个翅盘、2 个平衡器盘,以及将来分化成生殖器、眼、触角和头部结构的成虫盘(图 17－17)。

四、蛹化

3 龄幼虫发生蛹化,形成蛹。在蛹阶段,幼虫发生变态,由幼虫变为成虫。幼虫的大部分器官有次序地被破坏,而为新的成体器官所代替。新的器官来自未分化的成虫盘。蛹脱皮,丢弃蛹表皮,孵出成虫。

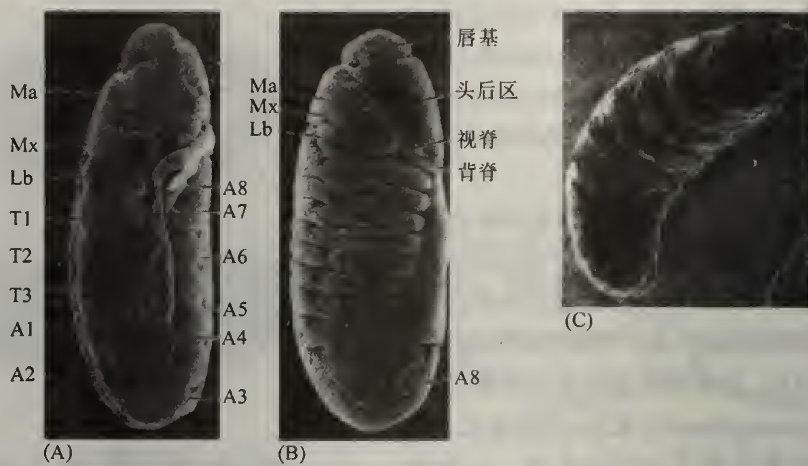


图 17－15　果蝇原肠作用的形态变化

(A)胚带迁移完成时的胚胎侧面观;(B)胚带收缩;(C)刚孵出的1龄幼虫。Ma, Mx, Lb 分别代表下颌节、上颌节和唇头节。T1～T3 为胸节;A1～A8 为腹节(自 turner, F. R. 1994)

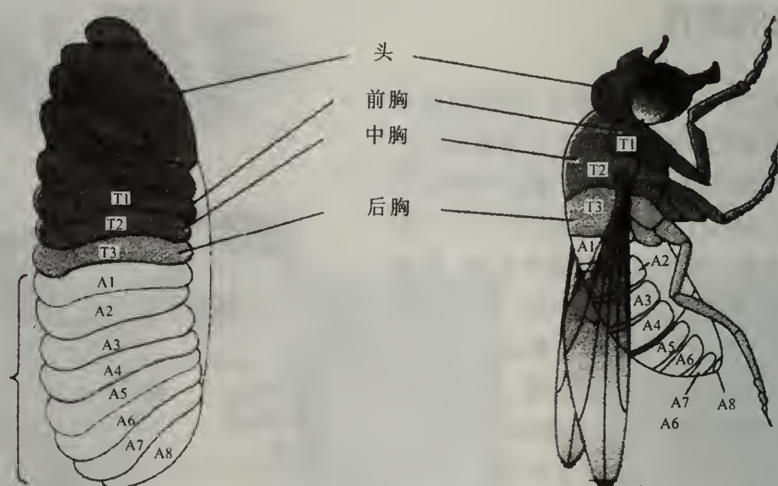


图 17－16　幼虫分节与成虫体节的对应关系

T1(前胸节)只长腿;T2(中胸节)长翅和腿;T3(后胸节)长平衡器和腿

五、果蝇个体发育过程中的几个关键问题

从上面对果蝇个体发育的主要变化的介绍，大家自然会提出几个与发育和细胞生物学有关的重要问题

(1)胚胎的前后和背腹极性是怎样发生的?

(2)体节如何形成?

(3)成虫盘的定向发育和分化机制?

经过几代学者的不懈努力，对这些问题已获得了较深刻的理解，下面我们将以这

些问题为纲，作一概括的系统介绍。从果蝇的发育过程中可以看出多细胞生物发育的一些普遍性的规律。

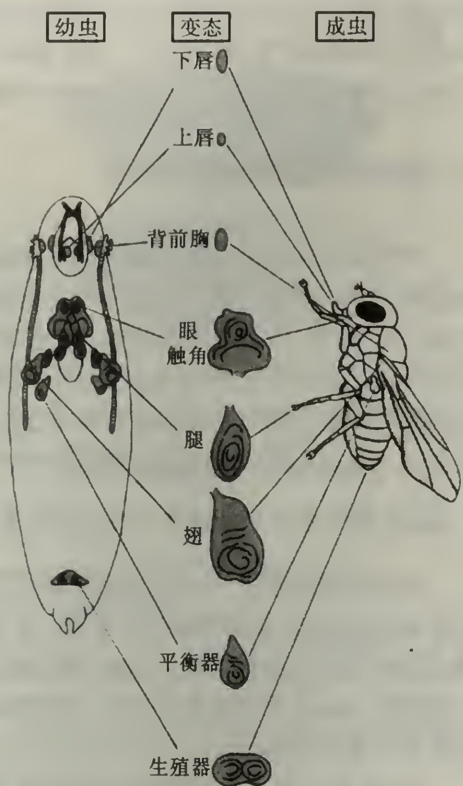


图 17－17　在变态过程中产生成体结构的成虫盘腹部表皮来源于幼虫腹部每一体节的成组织细胞群

第三节　母体效应基因与体轴的建立

早在 20 世纪初，学者们即已发现卵细胞的细胞质决定了卵的极性。后来实验证明，起这种作用的细胞质物质是 mRNA。这些 mRNA 是在卵母细胞成熟过程中，母体细胞基因的表达产物，定位于卵母细胞不同的区域。转录这些 mRNA 的基因称为母体效应基因（maternal effect genes）。这些 mRNA 影响着后来胚胎的极性产生（表 17－1）。根据对胚胎影响的发育部位不同，可将母体效应基因划分为三群：前部群、后部群和端部群。

一、胚轴的建立与卵轴的关系

前面曾提到过，卵母细胞在母体中

表 17-1　影响果蝇胚胎前后极性的母体效应基因

基　因	表　型	功能和结构
前部群		
bicoid(*bcd*)	头和胸缺失，代以倒置尾部	保持前部形态发生素梯度；含同源异型域
exuperantia(*exu*)	前头部结构缺失	锚定 *bicoid* mRNA
swallow(*swa*)	前头部结构缺失	锚定 *bicoid* mRNA
后部群		
nanos(*nos*)	无腹	后部形态发生素
tudor(*tud*)	无腹，无极细胞	nanos 定位
oskar(*osk*)	无腹，无极细胞	nanos 定位
vasa(*vas*)	无腹，无极细胞，卵发生缺陷	nanos 定位
valois(*val*)	无腹，无极细胞，细胞化缺陷	稳定 nanos 定位复合物
pumilio(*pum*)	无腹	向腹部运送后部信号
端部群		
torso(*tor*)	无端部	端部的形态发生素
trunk(*trk*)	无端部	给 *torso* 传递 *torso* 样信号
fs(1)*Nasrat*[fs(1)*ph*]	无端部，卵塌陷	给 *torso* 传递 *torso* 样信号
fs(1)*pole hole*[fs(1)*ph*]	无端部，卵塌陷	给 *torso* 传递 *torso* 样信号

的成熟过程中,由母体基因表达合成的 mRNA 和蛋白质。这些物质在卵母细胞中不均匀分布,从而使卵表现出极性。因此果蝇卵的前后轴(A-P 轴)和背腹轴(D-V 轴)在卵子发生过程中即已确定了下来。卵轴的确定对胚轴的建立具有指导意义。

(一)确定前后轴的母体效应基因

母体效应基因的表达产物在卵受精前即确定了卵的前后轴，这种差异是将来成虫形成头部和后部的基础。前面已提到决定 A-P 轴的母体基因根据其影响的部位可分为三群:前部、后部和两个端部。这些基因中如果有的发生突变,即可影响相应部分的发育。例如前部区基因 *bicoid* 发生突变,即可导致头、胸结构变小,甚至丧失,在有的情况下甚至可被后部结构所代替。这些母体基因有 50 几种以上,其中有 4 个基因(*bicoid*, *hunchback*, *nanos*, *caudal*)的产物沿 A-P 轴的分布特别重要。

1. *bicoid* 基因为 A-P 轴提供了形态发生素梯度

在未受精的卵中,*bicoid* mRNA 定位于前端,与微管结合,不发生翻译。受精后翻译成 bicoid 蛋白,并由前端向后扩散,沿 A-P 轴形成浓度梯度。这便为以后的 A-P 轴模式形成提供了位置信息。bicoid 蛋白的扩散分布是形态发生素梯度的典型例证。雌性果蝇的 *bicoid* 基因如果不表达，则前端体节即会受到破坏，没有头胸部，头端的口区变成了尾节(telson)。

bicoid 蛋白是一种转录因子,起形态发生素的作用。它对一些合子基因具有不同的作用浓度阈值,因此它可沿 A-P 轴启动新的基因表达模式。在卵子发生过程中,前部母体基因群的作用主要与 *bicoid* mRNA 的定位和翻译调控有关。

2. nanos 和 caudal 蛋白梯度调控后部发育模式

调控后部结构发育的母体基因群有 9 个基因。后部母体基因群的作用之一是将 *oskar* 和 *nanos* mRNA 定位于最后端。*nanos* mRNA 也是在受精后进行翻译, nanos 蛋白发生扩散,形成浓度梯度,胚胎的后端浓度最高。

但是 nanos 蛋白的作用不同于 bicoid 蛋白，它不直接起形态发生素的作用，它对腹部模式的规范方式是，抑制另一个母体基因—— *hunchback* 基因的 mRNA 的翻译活动。在早期胚胎中，前端高浓度的 bicoid 蛋白激活合子 *hunchback* 基因的表达，使 hunchback 蛋白形成前后浓度梯度，起形态发生素的作用，调控胚胎下一阶段的模式形成。但这时母体 *hunchback* mRNA 在卵内均匀分布,如果都同时翻译的话,就会造成后部的 hunchback 蛋白浓度过高。为了保持 hunchback 蛋白的前后浓度梯度，就得抑制后部母体 *hunchback* mRNA 的翻译活动，nanos 蛋白与 *hunchback* mRNA/pumilio 蛋白复合物相结合即起着这种抑制作用(图 17-18)。

3. caudal 蛋白调控腹部体节的发育

母体 *caudal* mRNA 起初在卵内也是均匀分布，但由于 bicoid 蛋白抑制 caudal 蛋白的合成,从而使 caudal 蛋白从后向前形成了浓度梯度,在胚胎的后端,bicoid 蛋白浓度很低,而 caudal 蛋白浓度最高。

由此可见,卵受精后母体蛋白很快沿前后轴形成了几种梯度,bicoid 和 hunchback

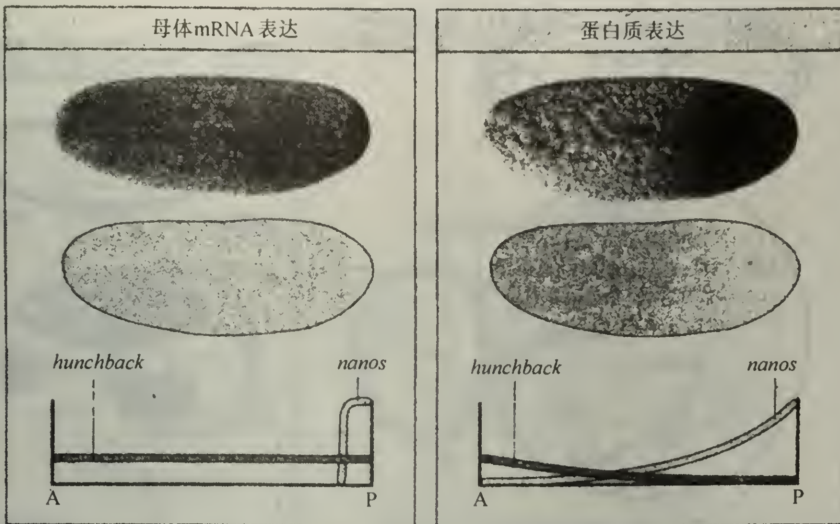


图 17－18　nanos 蛋白在建立 hunchback 蛋白浓度梯度中的作用
和 hunchback 蛋白对间隔基因转录位置的确定

左框图表示母体 *hunchback* mRNA 在卵中均匀分布，而 *nanos* mRNA 则集中在后端；右框图表示受精后，*nanos* mRNA 发生翻译，nanos 蛋白在后部抑制 *hunchback* mRNA 翻译，从而使母体 hunchback 蛋白形成前后浓度梯度

蛋白由前向后形成了两种浓度梯度，而 caudal 蛋白则由后向前形成梯度。这种浓度梯度的安排将在下一步发育中发挥作用。

4. 细胞表面受体的激活确立了胚胎前后端结构

胚胎前后轴两端的结构是由第三类母体基因来确定，前端为口区和头区，后端为尾节和最后的腹节。末端结构的特化也涉及到定位于卵中一定部位的母体基因，但其作用机制不同于形态发生素。在卵发生过程中，母体 *torso* 基因编码的受体蛋白，遍布整个卵的质膜上，而其配体则贮存在端部质膜外面的卵黄膜(vitelline envelope)上。受精后，配体与位于卵端部的 torso 受体蛋白结合，受体被激活，将信号传递给邻近的细胞质。受精前，配体封存在卵黄膜中，不能与受体接触。受精后，配体被释放到卵围隙中，并与 torso 受体结合。配体分子数量很少，只与端部受体结合。torso 受体是一种跨膜蛋白，其细胞质端具有酪氨酸激酶活性，被激活后将信号传至细胞内部，激活两极的合子基因(图 17－19)。

(二)定位于卵黄膜中的母体蛋白确定胚胎 的 D-V 轴

背腹(D-V)轴的确立是由于另一套母体基因的活动。与胚胎前后轴建立的同时，垂直于前后轴方向胚胎自腹向背分成了 4 个纵贯前后的区带，即：中胚层区、腹外胚层区、背外胚层区和羊浆膜区。卵巢中未受精的卵，其 D-V 轴腹端是由贮存在胚外的卵黄膜中母体蛋白来确定。直到受精后，贮存蛋白才被激活，在卵黄膜中引起一系列反应，这一系列反应将卵均匀分泌到卵围隙中的 spatzle 蛋白切成了片段，spatzle 片段是卵质膜上的 Toll 受体蛋白的配体（图 17－20)。Toll 蛋白是母体基因 *Toll* 的表达产

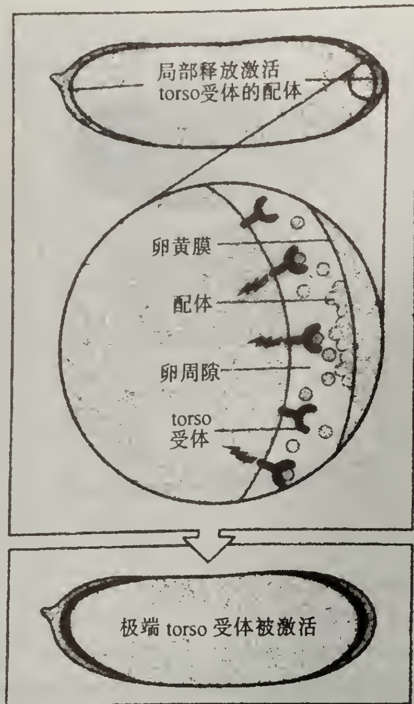


图 17－19　胚胎端区由 *torso* 基因确定（说明见正文）

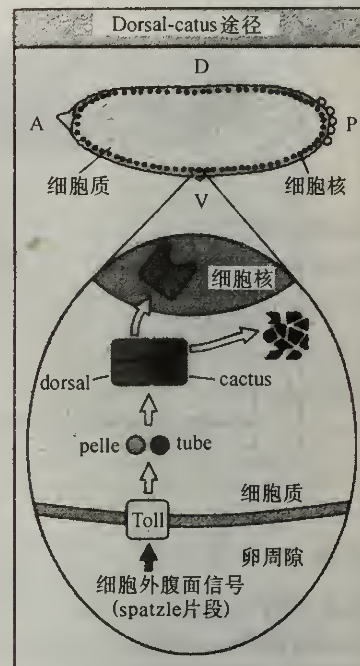


图 17－20　Toll 蛋白激活导致核内 dorsal 蛋白沿 D-V 轴形成梯度

物。spatzle 片段只存在于腹侧卵围隙中，因此只激活腹侧的 Toll 受体，受体将信号传到邻近细胞质中，引起 dorsal 蛋白进入就近的核中。dorsal 蛋白是母体基因 *dorsal* 的表达产物，它是一种转录因子，在组建背腹轴活动中起重要作用。dorsal 蛋白最初只在细胞质中，沿胚胎的背腹轴均匀分布。后来在 Toll 信号的影响下，dorsal 蛋白进入核中（图 17－21 ）。被 spatzle 片段激活的 Toll 受体越多，dorsal 蛋白进入核中的越多。因此胚胎腹面核中的 dorsal 蛋白含量最高，越向背面的核，含量越少，因而最背端无 dorsal 蛋白进入核。

dorsal 蛋白一旦进入核，即影响基因表达。按 dorsal 蛋白在核中的浓度分布，从腹侧到背侧可划分成四条纵贯前后的区带。最腹部区带的细胞核中的 dorsal 蛋白的浓度最高，此区分化为中胚层（产生肌肉和结缔组织）；再上一区带，核中的 dorsal 蛋白浓度较低，成为腹外胚层（预定神经外胚层）；赤道上面为背外胚层（预定背部表皮）；最背部的为预定羊浆膜（amnioserosa）（胚胎背侧的一层胚外膜，胚胎发育完成后即脱去）。赤道（中线）以上的区带细胞核中几乎不含 dorsal 蛋白（图 17－22 ）。

由此可见，母体效应基因的表达产物在卵中有秩序的空间分布，便为胚胎的进一步发育奠定了最基本的结构基础（图 17－23）。

二、dorsal 蛋白沿 D-V 轴调控合子基因表达

腹侧的核中 dorsal 蛋白含量最高，越向背侧，核中 dorsal 蛋白含量越低，最背侧的核中则无 dorsal 蛋白。dorsal 蛋白有两种作用：一是激活腹部特定位置的某些合子基

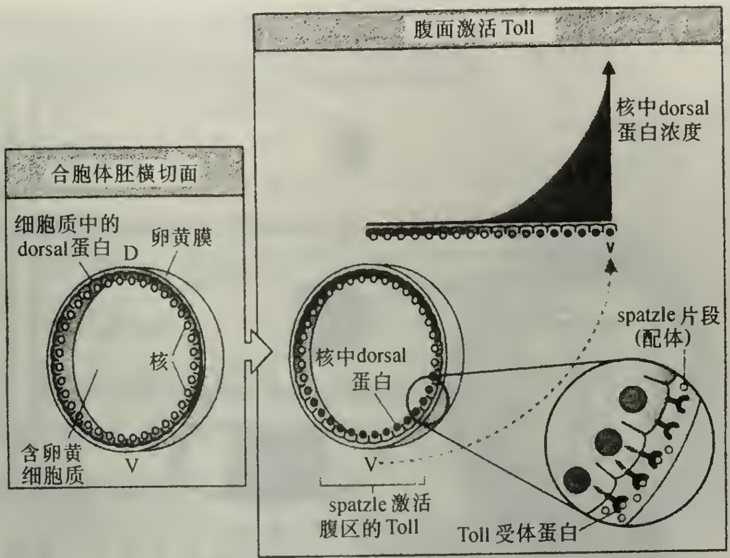


图 17-21 dorsal 蛋白进入核的机制图解(自 Wolpert, L. 1998)

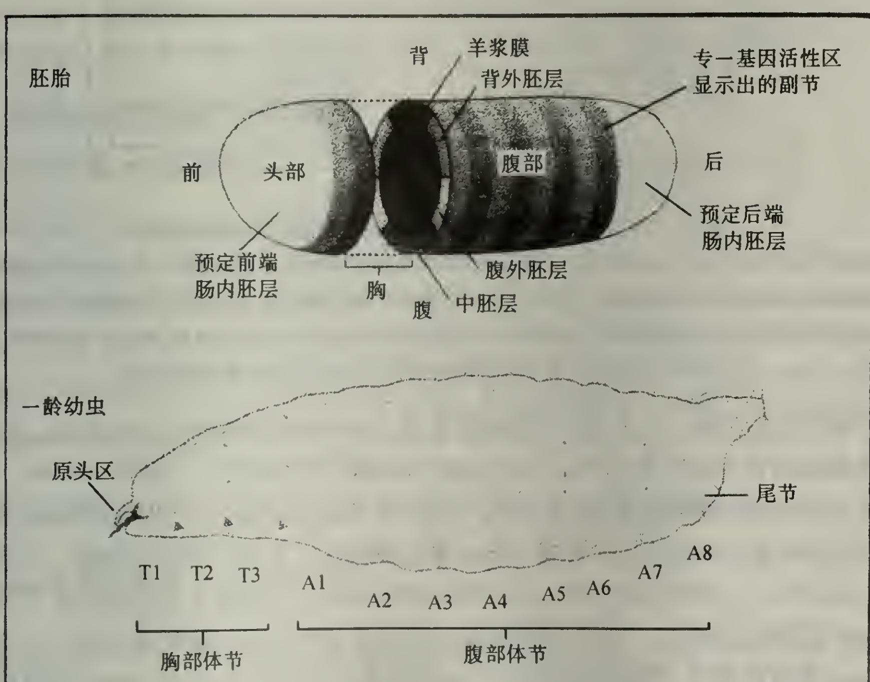


图 17-22 果蝇胚胎纵贯前后自腹向背形成 4 条区带

因；二是抑制其他一些基因的活性，从而使这些基因只在背区表达。最腹部区带的细胞核中 dorsal 蛋白的激活合子基因 *twist* 和 *snail* 表达，它们的表达具有两种作用，一是使细胞分化为中胚层，再是引起原肠作用，使腹带细胞移入胚胎内部。低水平的 dorsal 蛋白可激活预定神经外胚层中的 *rhomboid* 基因，指导预定神经外胚层分化为神经系统和幼虫腹部表皮。

dorsal 蛋白可抑制 *decapentaplegic*, *tolloid* 和 *zerknüllt* 基因的表达，因此这些基因

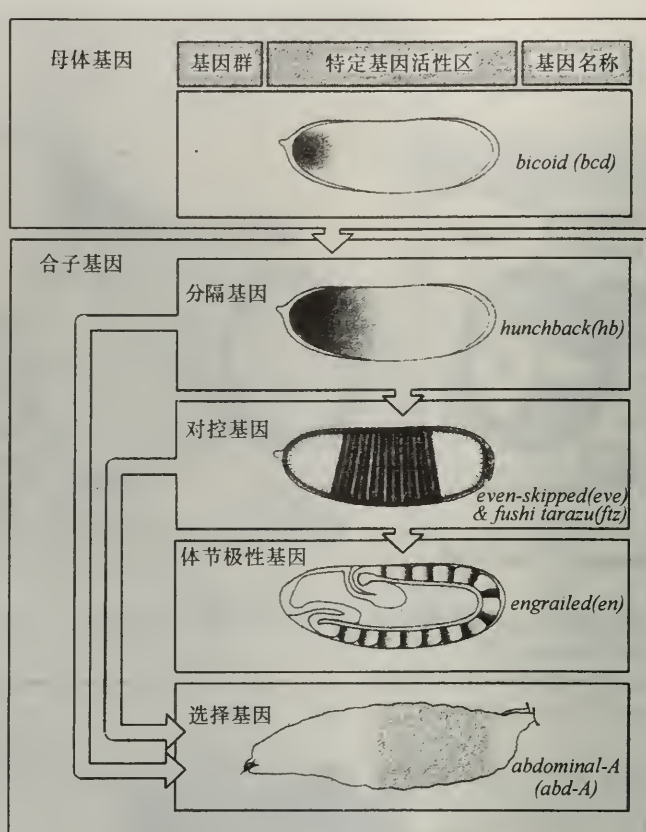


图 17－23　各组基因的循序表达建立了前后轴的躯体模式

示母体基因产物对合子基因活动的影响。存储在卵中的母体基因产物，如 *bicoid* mRNA，在受精后进行翻译，翻译产物为激活合子基因提供了位置信息。4 组合子基因沿前后轴发挥作用，这 4 组基因即：分隔基因、对控基因、体节极性基因和选择基因。分隔基因确定区域差异，从而导致对控基因波浪式周期激活，确定了副节界限，体节极性基因的作用是建立体节形成模式，体节的个性特征则由选择基因确定

只在背部区具有活性。*zerknüllt* 在最背部表达，指导分化为羊浆膜。*decapentaplegic* 在指导背腹轴的背部结构模式形成中起关键作用(图 17－24)。

受 dorsal 蛋白调节的基因，如 *twist*, *snail* 和 *decapentaplegic*，它们都在基因的调节区含有 dorsal 蛋白结合部位，根据 dorsal 蛋白的浓度，使基因激活或抑制，这表现出 dorsal 蛋白作为一种形态发生素，具有浓度阈值效应。这是由于基因调节区中含有两个 dorsal 蛋白结合部位，一个低亲和部位，一个高亲和部位。最腹部（12～14 个细胞宽)dorsal 蛋白浓度高，同低亲和部位结合，即可激活基因表达。而在 dorsal 蛋白浓度较低的区域（腹中线以上 20 个细胞)，则是两个亲和部位配合促进 dorsal 蛋白同高亲和部位结合，调节基因表达。基因中的调节序列可看作是一种发育开关，一旦同转录因子结合，基因被激活，细胞即进入新的发育途径。

三、确定背部结构模式形成的形态发生素为 decapentaplegic 蛋白

decapentaplegic 基因在背部表达，其表达产物 decapentaplegic 蛋白是一种信号传

递蛋白。decapentaplegic 蛋白的活性在背部最高，沿 D-V 轴形成梯度，规定背部结构的发育模式。因此背腹轴的模式形成受两种梯度的调节，即 dorsal 蛋白梯度和 decapentaplegic 蛋白梯度，这两种梯度共同作用，使背腹轴分成了几个区，每一区都具有专一基因活动和发育命运。

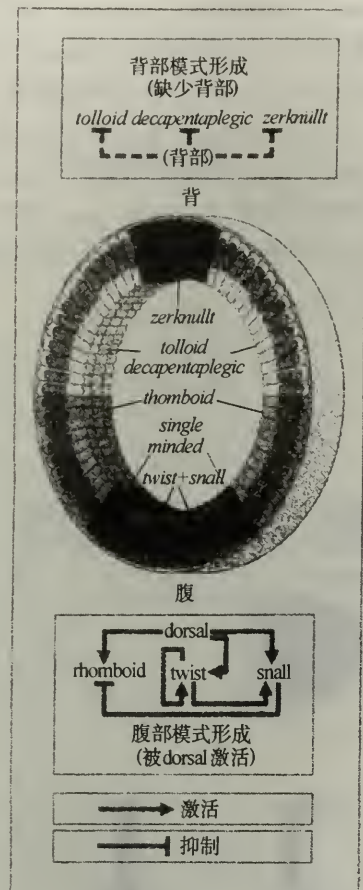


图 17－24　核 dorsal 蛋白梯度将背腹轴分为不同的区
背区核中无 dorsal 蛋白，故 tolloid zerknüllt 和 decapentaplegic 不受抑制。在腹区，dorsal 蛋白激活 twist snail 和 rhomboid 基因。Twist 自我反馈表达，并激活 snail。snail 蛋白抑制 rhomboi 表达(自 Molpert, L. 1998)

第四节　合子基因对早期胚胎模式形成的调控作用

母体因子激活某些合子基因表达是胚胎模式形成的开端。合子基因分为若干组，表达顺序有先有后，它们之间有着严密的连锁关系，协调有序地调控着胚胎发育的模式形成。

一、间隔基因沿前后轴将胚胎区分成若干宽带区

间隔基因 (gap genes) 是沿前后轴最早表达的合子基因，它们均为转录因子编码。胚胎尚处于合胞体胚层阶段时，沿前后轴的 bidoid 蛋白梯度即启动了间隔基因的表达。间隔基因包括有 *hunchback*, *giant*, *krüppel*, *knirps*, *tailness* 等基因。之所以称为间隔基因，是因为这组基因发生突变时，会导致体节模式发生间隔缺失现象。

(一) bicoid 蛋白激活 *hunchback* 基因

bicoid 蛋白主要是激活前部 *hunchback* 基因表达，继之 *hunchback* 基因又激活其他间隔基因表达，它们的表达沿前后轴有秩序地依次排列(图 17－25)。间隔基因蛋白产物从其合成部位扩散，但因其寿命很短，只有几分钟，故扩散距离不远。hunchback 蛋白有所例外，它在前部占有广阔区域，而且其前后浓度陡度较大。bicoid 蛋白激活 *hunchback* 基因是通过同其启动区的调节部位结合，因此调节部位起基因开关的作用。而 nanos 蛋白有抑制 *hunchback* mRNA 翻译的作用。

(二) hunchback 蛋白梯度对其他间隔基因起激活或抑制作用

hunchback 蛋白也是一种转录因子，起形态发生素的作用。横跨前后轴的其他分

隔基因表达带的形成与 hunchback 蛋白梯度有关，同时也涉及到 bicoid 蛋白。例如，bicoid 蛋白配合以低浓度 hunchback 蛋白可激活 *krüppel* 基因表达，但如果配合以高浓度的 hunchback 蛋白，则起抑制作用。hunchback 蛋白低于阈值浓度，则不再有激活作用。因此 hunchback 蛋白梯度可将 *krüppel* 基因活动精确地定位于胚胎中部。hunchback 蛋白还与确立间隔基因 *knirps*, *giant* 表达带的前缘有关，也是通过其浓度阈值来抑制或激活 *knirps* 和 *giant* 基因。高浓度 hunchback 抑制 *knirps* 表达，从而确定了 *knirps* 的表达前缘；*knirps* 表达 带的后缘则由 *tailless* 以同样的相互作用方式来确定(图 17 - 26)。

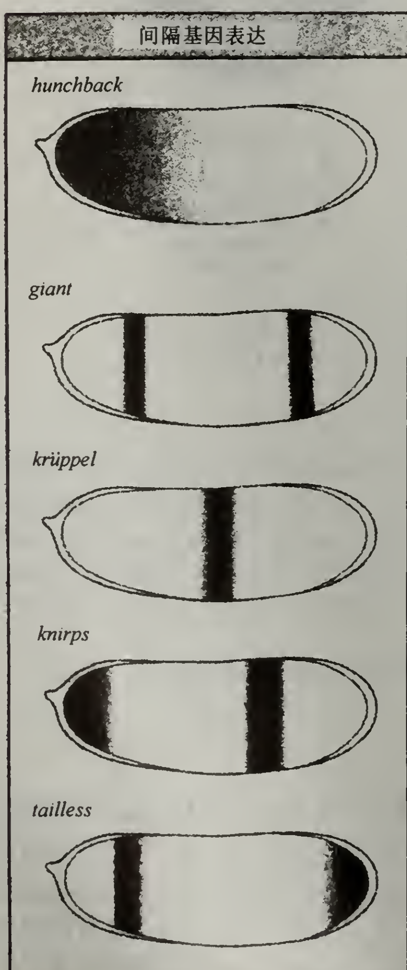


图 17 - 25　早期果蝇胚胎中间隔基因的表达
hunchback，*Krüppel*, *giant*, *knirps* 和 *tailless* 基因沿前后轴在不同部位表达，这些基因的表达受 bicoid 蛋白和 hunchback 蛋白浓度，以及间隔基因之间的相互作用的调控

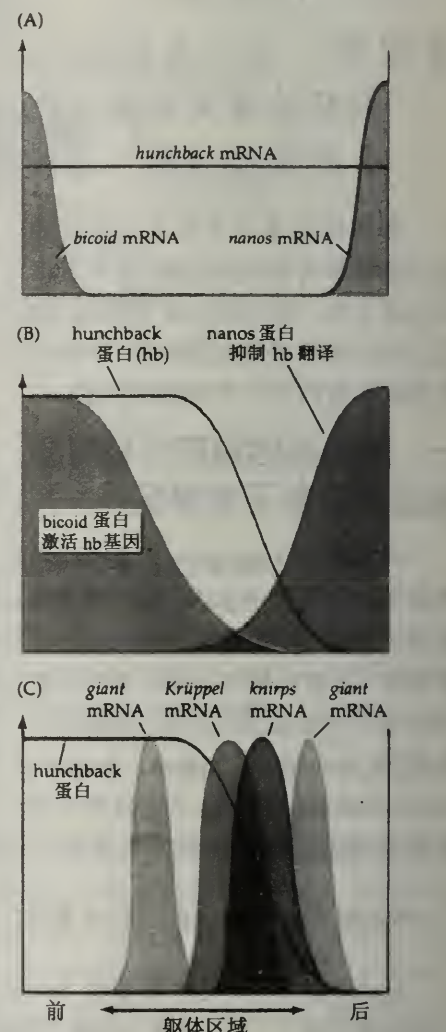


图 17 - 26　hunchback 蛋白梯度的形成和功能
(A) 母体 *bicoid* 和 *nanos* mRNA 分别位于卵的前端和后端，而母体 *hunchback* mRNA 在整个胚胎中前后分布均匀；(B) 受精引起 *bicoid* 和 *nanos* 的 mRNA 分别翻译成蛋白质，bicoid 蛋白刺激合成新的 *hunchback* mRNA，而 nanos 蛋白则抑制 *hunchback* mRNA 的翻译，从而导致 hunchback 蛋白形成梯度；(C) hunchback 蛋白浓度梯度决定了分离基因，如 *giant*, *krüppel* 和 *knirps* 发生转录的位置(自(Struhl et al.　1992))

间隔基因都是转录因子，在合胞体胚胎中扩散，形成各自的梯级分布，它们彼此间有一定重叠，从而使胚胎的前后轴分成许多专一区。间隔基因的区域分布启动了下一个发育阶段，激活了对控基因（*pair-rule genes*），使胚胎分节（表 17－2）。

表 17－2　果蝇中影响分节模式的主要基因

类　别	分隔基因	对控基因	体节极性基因
	Krüppel（*Kr*）	初级：	*engrailed*（*en*）
基	*knirps*（*kni*）	*orthodenticle*（*otd*）	*wingless*（*wg*）
因	*hunchback*（*hb*）	*hairy*（*h*）	*cubitus interruptus*^{D}（*cb*^{D}）
	giant（*gt*）	*even-skipped*（*eve*）	*hedgehog*（*hh*）
	tailless（*tll*）	*runt*（*run*）	*fused*（*fu*）
	huckebein（*hkb*）	次级：	*armadillo*（*arm*）
名	*buttonhead*（*btd*）	*fushi tarazu*（*ftz*）	*patched*（*ptc*）
	empty spiracles（*ems*）	*odd paired*（*opa*）	*gooseberry*（*gsb*）
称		*odd-skipped*（*sdd*）	
		sloppy-paired（*slp*）	
		paired（*prd*）	

母体因子激活合子基因早期表达的顺序：

前后轴

bicoid 蛋白梯度在高浓度处
激活 *hunchback*

↓

hunchback 激活或抑制间隔基因
如 *krüppel*, *knirps*, *giant*

↓

间隔基因产物与间隔基因相互
作用，使表达边界锐化

↓

胚轴分成了一些含有不同转录
因子组合的独立区

背腹轴

核内含 dorsal 蛋白形成梯度

↓

腹面激活 *twist*, *snail*。
decapentaplergic 受抑制

↓

背部 *decapentaplergic* 表达

↓

decapentaplergic 活性梯度
确定背区模式

↓

背腹轴分成了预定中胚层、神经
外胚层、表皮、羊浆膜

二、对控基因对副节形成的调控作用

果蝇胚胎进一步发育成幼虫，幼虫最明显的特点是，表皮沿前后轴有规律地分节。幼虫的这种分节模式一直延续到成虫，每一体节都具有各自的特性。成虫的附肢，如翅、平衡器和腿都连在特定的体节上。但是成熟幼虫的体节与最初沿前后轴的分节

单位不一致，这种最初的基本发育组件单位称为副节（parasegments）。成虫的体节是由副节衍生而来。副节的形成受对控基因(*pair-rule* genes)的控制，由于这种基因发生突变，可引起每隔一节缺一节，因此之故称为对控基因。

(一)对控基因有秩序表达产生副节

在原肠作用之后，胚胎表面出现了一些暂时性的沟，这些沟确定了副节的界限。果蝇胚胎共分 14 个副节，每一个副节在特定的一组基因控制下成为一个独立的发育单位。前 3 个副节参与形成头部体节，再 3 个副节形成胸部体节，最后 8 个副节形成腹部体节。最初副节彼此相似，后来获得了各自的特性。副节与后来的体节并不对应，每一个体节是由一个副节的后区和后一个副节的前区组成。胚胎前部的副节发生了融合，因此头区不分节(图 17－27)。

胚胎副节是由合子的对控基因(*pair-rule genes*)来界定。根据作用先后，对控基因可分为初级对控基因，如 *even-skipped*，和次级对控基因，如 *fushi tarazu*(见表 17-1)。*Even-skipped* 在奇数副节中表达，*fushi tarazu* 在偶数副节中表达。每一个基因的表达模式是沿胚胎产生 7 条表达横带，经专一抗体染色后，胚胎上呈现出类似于斑马条纹图形（图 17－28)。

对控基因表达带的位置由分隔基因的活动控制。下面我们对其控制机制做一简要分析。

(二)对控基因的表达带的位置由间隔基因确定

对控基因在胚体上呈条纹模式表达的控制机制引起学者们的关注。条纹的出现为一渐变过程，条纹的最初边缘模糊，随后才逐渐明显。实验表明，对控基因表达条纹的出现有赖于 *bicoid* 以及间隔基因 *hunchback*，*Krüppel* 和 *giant* 的正常表达。*Even-skipped* 基因的激活需要有 bicoid 蛋白和 hunchback 蛋白，但这两种蛋白质不能确立基因表达纹的边界。边界的确立需要有 Krüppel 和 giant 蛋白，这两种蛋白质可抑制 *Even-skipped* 基因的表达。当 Krüppel 和 giant 蛋白的浓度高于某一阈值水平时，即便是存在有 bicoid 蛋白和 hunchback 蛋白，*Even-skipped* 基因的表达也要受到抑制。giant 蛋白浓度的阈值点位于带纹的前缘，而 Krüppel 蛋白浓度的阈值点位于带纹的后缘。

对控基因对不同浓度和不同组合间隔基因转录因子的反应，确定了每一条带纹的定位。对控基因含有多个不同转录因子的结合部位，构成了复合调控区（complex control regions)。例如，*Even-skipped* 基因的调节区即分成几个区，每一个区控制一条带纹的定位。

对控基因表达带模式出现在胚胎细胞化之前，这时仍处于合胞体胚胎阶段，一旦对控基因开始表达，胚胎随即发生细胞化。每一个对控基因呈现出 7 条表达带，一条带的宽度仅为 3 个细胞。有的基因(如 *Even-skipped*)在带的前缘表达，此前缘即是副节的前缘。

每条对控基因表达带的位置由 *bicoid* 和 3 个间隔基因 *hunchback*, *Krüppel* 和 *giant* 的正常表达来决定。bicoid 蛋白和 hunchback 蛋白可激活 *even-skipped* 基因表达，

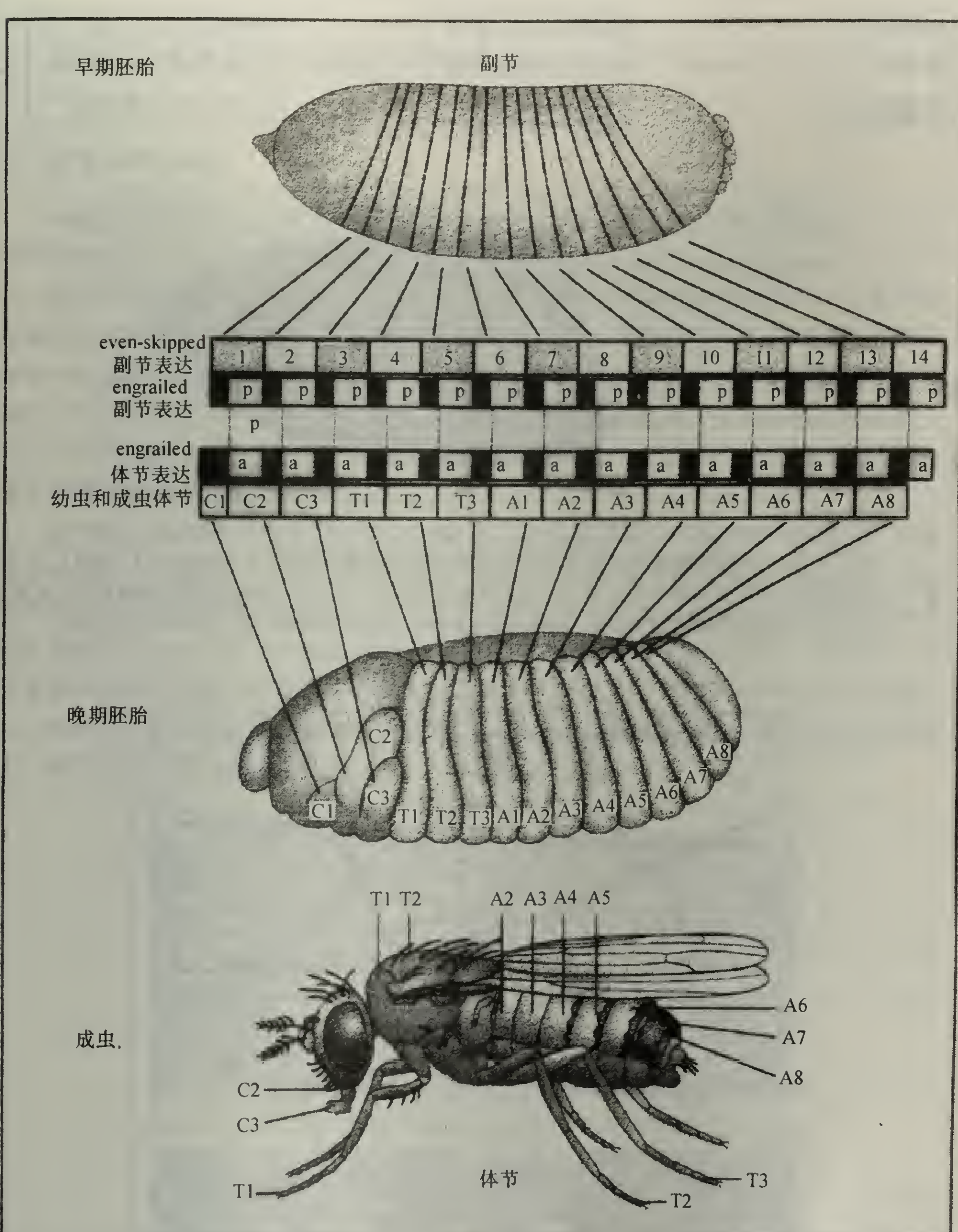


图 17－27　果蝇(早期胚胎、晚期胚胎和成虫)发育过程中副节与体节的相互关系示意图

对控基因 *even-skipped* 在奇数副节中表达。体节极性选择基因 *engrailed* 是在每一副节的前区表达，界定副节的前缘。幼虫每一体节是由一个副节的后区和下一副节的前区组成，因而副节的前区变成了体节的后部。*Engrailed* 基因在每一体节的后区表达。体节特化为成虫的结构和附肢。图中 a 和 p 分别代表副节或体节的前区和后区。C1，C2，C3 体节融合成头区，T 和 A 分别代表胸节和腹节(自 Lawrence, P.　1992)

从而确定了副节的前缘(图 17－29)。

对控基因调控副节分节的过程可表示如下：

间隔基因转录因子局部组合 ——→ 激活各对控基因沿前后轴各表达为 7 条横带 ——→ 对控基因表达确定 14 个副节，各对控基因在副节中交替表达

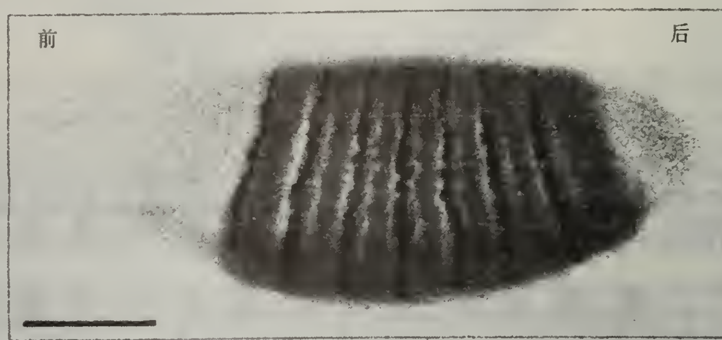


图 17－28　果蝇胚胎临近细胞化之前对控基因表达的横纹模式（自 Lawrence, P. 1992）

每一个对控基因分别或在奇数副节中表达，或在偶数副节中表达，*even-skipped* 基因在奇数副节中表达，*fushi-tazaru* 基因在偶数副节中表达。深黑色为奇数体节；灰色者为偶数体节。图中标尺 = 0. 1mm

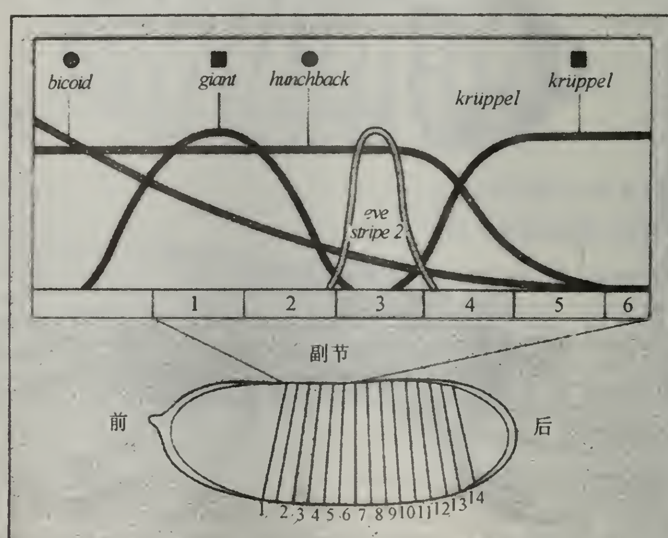


图 17－29　间隔基因蛋白确定第二条 *even－skipped*（*eve*）表达带示意图

间隔基因 *hunchback*, *giant* 和 *Krüppel* 表达的转录因子以不同浓度相互配合，确定了 *even-skipped* 基因在第三副节处表达，呈一条窄带状

对控基因编码的转录因子又为下一轮的转录活动建立了空间框架，为副节下一步的模式形成奠定了基础。

三、体节极性基因与幼虫的体节形成

(一)体节边界的确立

细胞胚通过细胞运动发生原肠作用(gastrulation),产生了外、中、内三胚层。与此同时胚胎由前到后产生了分节现象，最初产生的节称为副节（parasegments)，共14条。胚胎在副节的基础上形成了体节(segments)。对控基因的表达确定了14个副节的前缘边界，与此同时胚胎发生细胞化。副节位置的固定和幼虫表皮体节的建立，则受体节极性基因(*segment polarity* genes)的调控。体节极性基因不同于间隔基因和对控基因，它是一群各式各样的基因，它们的蛋白质产物和作用机制没有明显的相关性。它们之所以被称为体节极性基因，是由于发生突变时，往往使体节的前后极性颠倒，体节前部或后部发生镜像对映重复。

体节极性基因被对控基因的表达所激活。对控基因在14条横带中均表达，每条横带相当于一个副节。在对控基因表达的过程中，胚胎由合胞体胚变为细胞胚，因此体节极性基因是在细胞中起作用，而不是在合胞体中起作用。被对控基因激活的体节极性基因中，有一个为 *engrailed* 基因，*engrailed* 的表达产物为转录因子。它在每一副节的前区表达，其重要作用在于，它的表达确立了细胞谱系限制区(cell linage restriction)的边界；而且它还是一个选择基因(selector gene)，通过调控另一些基因的活动赋予一些区域以一定的特性(图17-30)。

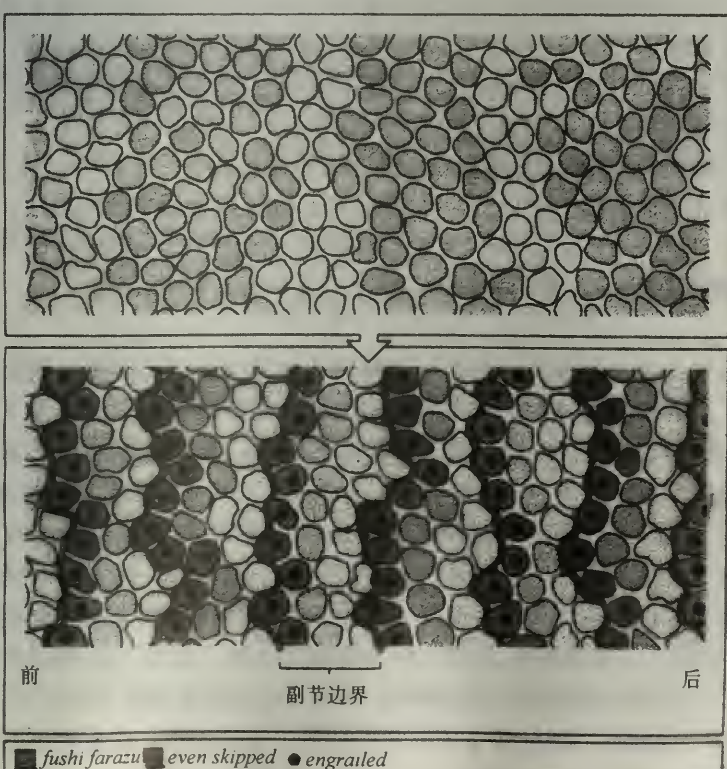


图17-30　对控基因 *fushi tarazu* 和 *even-skipped*，以及体节极性基因 *engrailed* 在副节中的表达
engrailed 在每条带的前缘表达，确定了每条副节的前缘，后来每条副节变得明显，并取直

engrailed 基因在胚胎分节方面起着关键性作用，而且终生表达。最初，*engrailed* 是在胚胎发生细胞化时被激活，表现为出现 14 条横带。*Engrailed* 开始是在每一副节前缘的一排细胞（约为三个细胞宽）中表达，在胚胎中呈现出波浪周期性，胚胎表面副节之间出现暂时性的陷沟（图 17 - 31）。这种表达模式是由对控基因编码的转录因子



图 17 - 31　果蝇胚胎发育后期（胚带阶段）*engrailed* 基因的表达

每一副节的前区中 *engrailed* 基因表达，胚胎表面上副节之间出现暂时性的陷沟。在此发育阶段，胚带暂时性地伸展到胚胎的背部，后来又缩回（自 Lawrence, P. 1992）。标尺 = 0. 1mm

（包括 *fushi tarazu* 和 *even-skipped* 的基因产物）配合作用造成的。*fushi tarazu* 通常在偶数副节中表达，如果胚胎 *fushi tarazu* 发生突变，则 *engrailed* 在偶数副节中不表达。

副节前缘具有一种很重要的属性，即起细胞谱系（cell linage）限制区边界的作用，一个副节中的细胞和细胞后代永不迁移到相邻的副节中。这表明副节细胞在某种共同的遗传机制控制下，既可避免相邻副节中的细胞混杂，又可调控以后的发育。

随着发育，副节前缘的细胞谱系限制区进入了幼虫和成虫的体节中。每一体节分为前区和后区，前区是由一个副节的后部演变而成，而后区则是由后一个副节的前部演变而成，因此每一副节的前部和后一体节的前部组成了一个体节。每一体节中，细胞谱系界限介于体节前半部与后半部之间，*engrailed* 限在后半部中表达。

（二）体节极性基因对体节形成的调控机制

体节极性基因在副节中的表达有严格的区域限制。副节边界两侧直接相邻的细胞间建立了信号反馈传递循环。边界的前方为一副节的后区，后方为下一副节的前区，后区后缘细胞与前区前缘细胞接触。*Engrailed*（*en*）和 *hedgehog*（*hh*）基因在前区前缘细胞中表达，表达产物为分泌蛋白，hedgehog 蛋白可维持后区后缘细胞的 *wingless*（*wg*）表达。*wg* 是一种糖蛋白，它反过来又支持相邻的前区前缘细胞中的 *en* 和 *hh* 基因继续表达（图 17 - 32）。这些细胞的表面上带有这些信号分子的受体，受体蛋白是其他体节极性基因的编码产物，如 *patched* 基因为 hh 蛋白的受体编码。这些基因的反馈调节，加强了体节分界的界限，从而为体节的形成创造了条件。*wg* 基因表达的副节的后区变成了体节的前区，而下一副节表达 *en* 的前区变成了该体节的后区。如果 *wg* 发生突变，则体节的前区重复，体节的前后区变成了镜像对映。幼虫表皮上按体节长有成排的小齿。

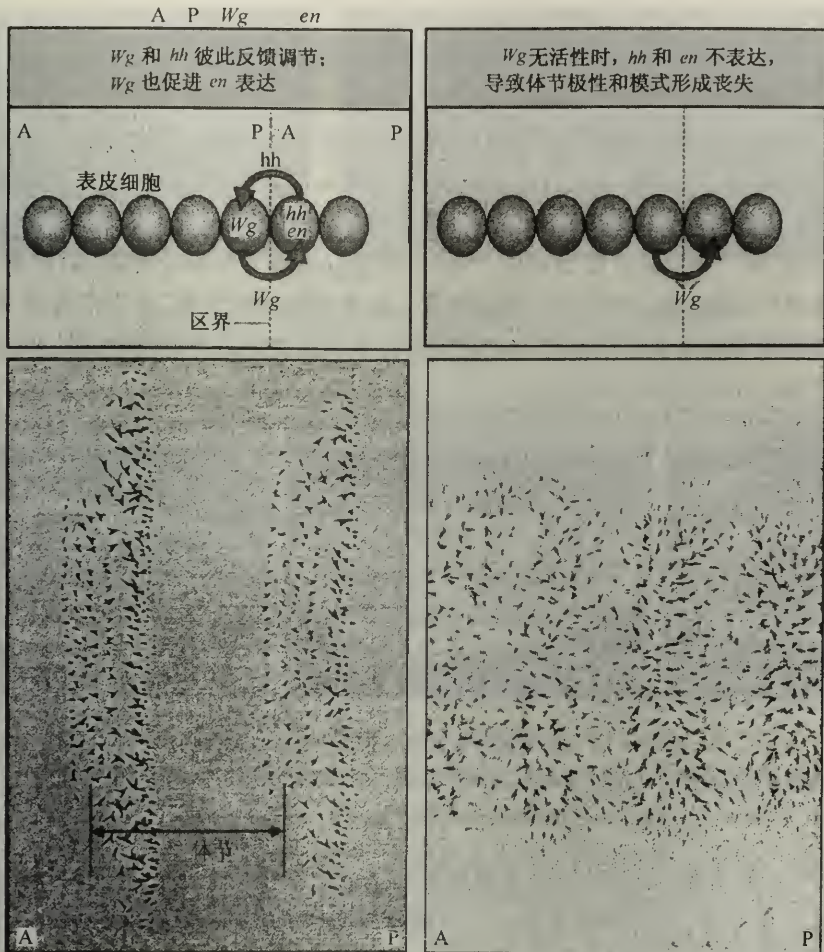


图 17-32 *hh*、*wg* 和 *en* 表达产物在区界处的相互作用调控表皮角质小齿的发生模式

综上所述，体节极性基因确定体节的机制可概括表示如下：

对控基因表达

↓

每一体节前部的体节极性基因 *engrailed* 被激活，确定副节前区和体节后区

↓

engrailed 表达细胞也表达体节极性基因 *hedgehog*

↓

区界另一侧的细胞表达体节极性基因 *wingless*

↓

wingless 和 hedgehog 蛋白维持 *engrailed* 持续表达，保持区界的稳定

↓

区界部位成为信号发送中心，调控体节发育模式

第五节　同源异型选择基因与体节发育模式

果蝇细胞胚通过原肠作用进一步发育为幼虫，在原肠作用过程中预定中胚层细胞向腹面中线迁移和内陷，产生了腹沟。腹沟进一步内陷，与表面脱离，在胚胎内形成腹管。腹管变扁，在腹面外胚层下方形成中胚层组织。在腹沟的前后两端预定内胚层内陷，形成两个囊。这时胚胎折屈，产生了头沟(cephalic furrow)和前、后横褶。此时仍处于表面的细胞向腹中线迁移，形成胚带。胚带细胞向后迁移，并折向背面，因此胚带末端细胞紧邻将来头区的后方，末端细胞将形成幼虫最后部的结构（图 17－33）。这

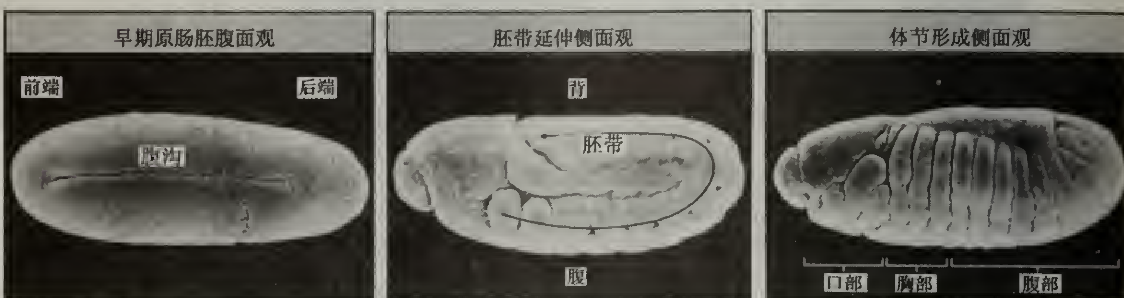


图 17－33　果蝇胚胎的原肠作用，胚带延伸和分节
原肠作用中，腹沟内陷产生中胚层；胚带延伸，躯干后部转向背侧，并发生分节现象
（自 Turner, F. R. et al.　1977, Alberts, B.　1994）

时，体节开始出现，幼虫的体节从腹部腹面的表皮很容易看出。每一体节的前区表皮长出几丁质小齿，后区则无小齿。小齿的排列有不同的模式，这反映出每一体节的前后极性梯度(图 17－34)。

细胞胚的上皮细胞层向内凹陷，在体内形成一些小囊，小囊称为成虫盘。成虫盘

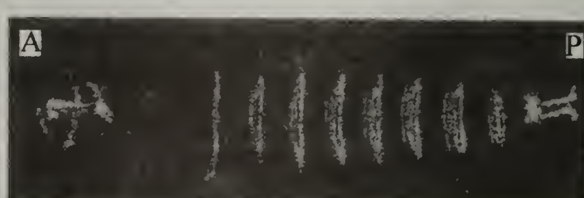
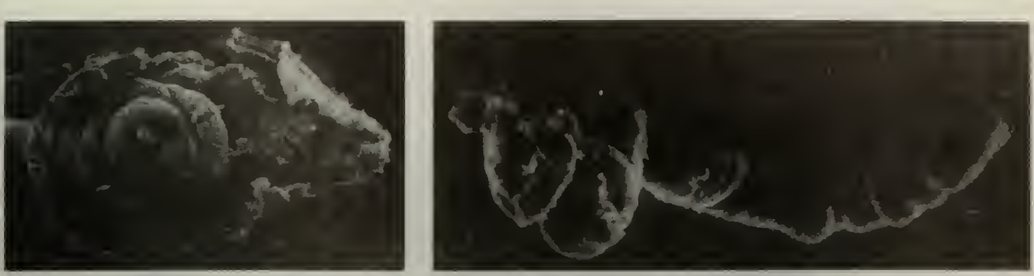


图 17-34　幼虫腹部腹面每一体节上各有特定形式的小齿分布
每一体节的前区有小齿，每一体节各具有自己特有的小齿排列模式（自 Wolpert, L.　1998）

是一些未分化的细胞巢，将来分化为成虫的各种器官。成虫盘共有 10 对，再加一个生殖盘，其中前 9 对将分化成果蝇的前部器官，如口器、唾液腺、触角、眼、腿、平衡器、翅等；最后一对的细胞称为成组织细胞（histoblasts），将分化成腹部表皮和成虫内部器官；生殖盘则形成生殖结构。成虫盘在幼虫变态前一直保持未分化状态(图 17－35)。

一、同源异型选择基因对体节发育的调控

如上所述，胚胎在分节的基础上进一步发育为幼虫和成虫。这就存在这样的一个



(A) (B)

图 17－35 幼虫变态时形成成体结构的成虫盘扫描电镜图

成虫盘是由未分化细胞组成的上皮囊，变态时形成各种成虫结构，腹部表皮来自幼虫各副节中的成组织细胞。图示腿盘上皮囊在变态前后的形态。图示腿盘上皮囊在变态前后的形状。(A)果蝇3龄幼虫腿盘伸长前的形态；(B)腿盘发育伸长后的形态(自 Fristrom et al. 1977)

问题，既然在每一个体节中都有同样的体节极性基因打开，那么为什么各个体节的发育命运会有不同？实验证明，体节属性的特化和发育道路是由称为同源异型选择基因(homeotic selector genes)的主调节基因(master regulatory genes)来确定。一个选择基因调节另外一些基因的活动，并在发育过程中维持基因的这种表达模式。



图 17－36 发生 Aritopedia 突变的果蝇在触角部位长出了腿（自 Kaufman，T. C. 1990）

早在19世纪末，有的学者（W. Bateson 1894）即发现果蝇中有同源异型转变(homeosis)现象，即有的附肢或器官长成了另一种不应在此部位生长的附肢或器官，Bateson 把这种变异个体称为同源异型突变体(homeotic mutants)。例如，果蝇有的突变体在该长触角的部位长成了腿，这种转变称为同源异型转化（homeotic transformation）(图 17－36)。后来发现，这种转变与基因突变有关，故称为同源异型突变(homeotic mutation)。

引起这种转化的基因称为同源异型基因(homeotic genes)或同源异型选择基因。这类基因的功能是确定一群细胞的个性（identity）和发育途径。它们编码同源异型区转录因子，在个体中终生表达。这类基因的共有结构特点是，都含有一段相同的核苷酸序列，此序列称为同源异型框(homeobox)。同源异型框序列可为同源异型选择基因编码的蛋白质中的一段共同的60个氨基酸序列编码，此段氨基酸序列称为同源异型域(homeodomain)。在三维结构上同源异型域序列形成螺旋－转角－螺旋(helix-turn-helix)结构域，它可同专一 DNA 序列结合(图 17－37)。

直到20世纪后期才逐步研究清楚了同源异型选择基因对体节发育的调控作用，这是在发育生物学和细胞生物学中的重大研究成果。为了表彰在这方面作出突出贡献的 Nüsslein－Volhard, B., Wieschaus, E. 和 Lewis, E. B. 三位学者，他们在1995年被授予诺贝尔奖。

果蝇3号染色体上的两个区含有大部分同源异型基因，这些基因调节体节的特定发育途径。这两个区的基因分别各组成了一个同源异型基因复合物，这两个同源异型基因复合物分别称为触角足复合物（antennapedia complex）和双胸复合物（bithorax complex)，它们共同称为 HOM 基因(图 17-38)。因为各个 HOM 基因所编码的转录因子都含有一个同源异型框(盒)(homeobox)，故这些基因称为同源异型基因(homeotic genes)。



图 17－37　与 DNA 特定部位结合的 engrailed 蛋白的同源异型域示意图
第 3 螺旋与 DNA 大沟的碱基对接触，而同源异型区的氨基端部分进入 DNA 小沟

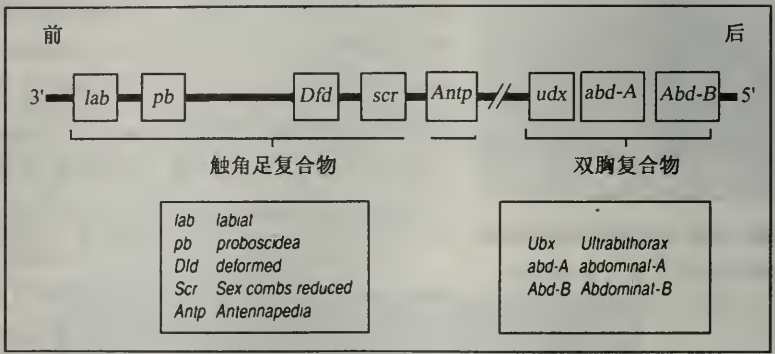


图 17－38　触角足复合物和双胸复合物同源异型选择基因的排列顺序
每一复合物均由 3′至 5′排列，此顺序反映了基因表达的时空顺序，3′最早表达

（一）间隔基因和对控基因调控同源异型选择基因的表达

同源异型选择基因受间隔基因和对控基因的调节。如 ftz 蛋白有促进 *Scr*、*Antp* 和 *Ubx* 基因表达的作用，因而在 *ftz*⁻胚胎中，这些同源异型选择基因不表达。此外，*ftz* 蛋白有抑制 *Dfd* 基因转录的作用。

（二）双胸复合物确定后部体节的分化

双胸复合物中包括 3 个基因，即 *Ultrabithorax*(*Ubx*)，*abdominal A*(*abdA*) 和 *Abdominal B*(*AbdB*)。这些基因在副节中以组合的方式表达，*Ubx* 在第 5 副节以后的副

节中表达；*abdA* 从第 7 副节以后表达；*AbdB* 则从第 10 副节以后表达。它们的组合作用确定了每一副节的属性。如果整个双胸复合物缺失，那么 5～13 副节的每一个副节都会按第四副节的模式发育；如果只缺少 *Ubx*，则第 5 和第 6 副节变成了第 4 副节，于是 7～14 副节表现出胸部的特征。*AbdB* 对 *Ubx* 有抑制作用，随着 *abdB* 表达的增强，*Ubx* 的表达降低，故在第 14 副节中 *Ubx* 的表达很弱（图 17～39）。*Ubx* 确定第 3 胸节的特性；而 *abdA* 和 *AbdB* 负责确定腹节的特性。

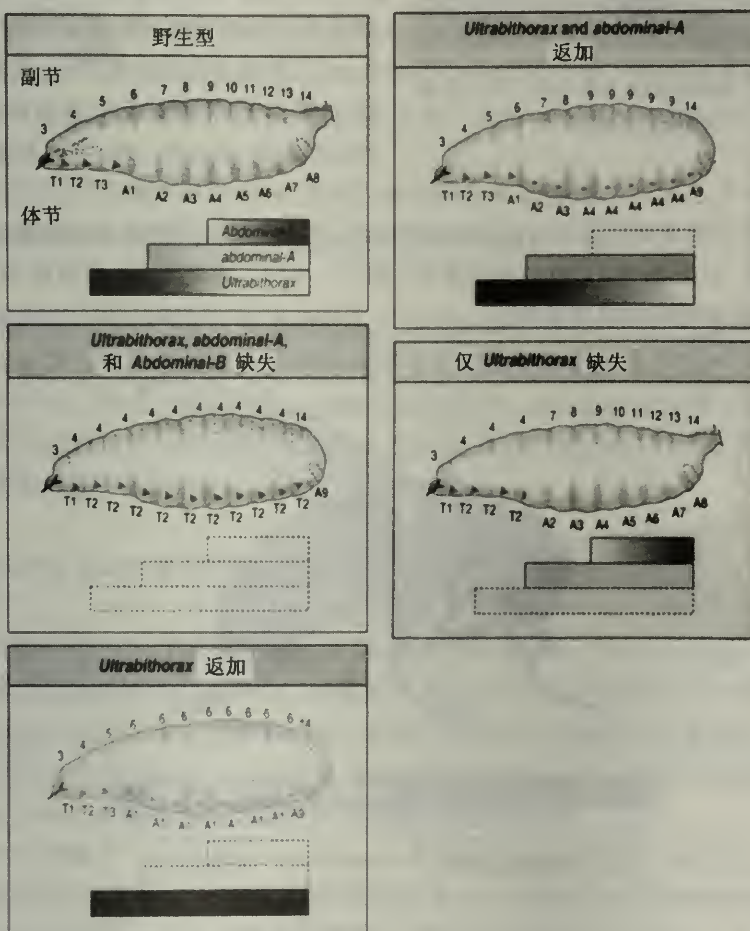


图 17－39 双胸复合物各基因的空间表达模式决定各副节的个性

在野生型胚胎（左第一框）中，有 *Ultrabithorax*，*abdominal－A* 和 *Abdominal－B* 的表达，以赋予每一副节的个性。bithorax 复合物发生突变时，则引起副节和由副节产生的体节发生同源异形转变。当 *bithorax* 复合物完全缺失时，第 5～13 副节转变成了 9 个第 4 副节（相当于幼虫的 T2 体节），这种转变表现为表皮上的小齿和刚毛的分布模式发生了改变。其他几个框表示不同基因组合缺失时所引起的转变。当 *Ultrabithorax* 基因单独缺失时（右第 2 框），第 5 和第 6 副节就转变成了第 4 副节。bithorax 复合物对第 14 副节无影响。所得的结果来自于原位杂交法（自 Wolpert, L. 1998）

如果 *Ubx* 复合物完全缺失，则会使第 3 胸节（正常长平衡器）按照第 2 胸节（正常长翅）的模式生长，结果果蝇长成了具有 4 个翅的个体（图 17-40），这种果蝇没有飞翔能力。



图 17-40　果蝇双胸复合物突变，引起平衡器与翅的转化

(三)双胸复合物基因表达确定各副节的发育模式

由于双胸复合物的各个基因在各副节中的表达程度不同，因而它们的组合表达可确定副节的发育特征。如果双胸复合物只有 *Ubx* 基因存在，则幼虫有一个副节4，一个副节5和8个副节6。显然，*Ubx* 基因对第5节以后的各个副节都有调节作用。如果将 *abdA* 和 *Ubx* 注入胚胎中，则幼虫具有副节4,5,6,7,8，接着为5个副节9。因此 *abdA* 可影响副节7以后的各副节，它与 *Ubx* 配合能够确定副节7,8,和9的特性。*AbdB* 则以同样的方式影响副节10以后的各副节，它在副节14中的表达最强(图17-41)。由此可见，体节的差别反映了HOM基因表达模式的时空差异。

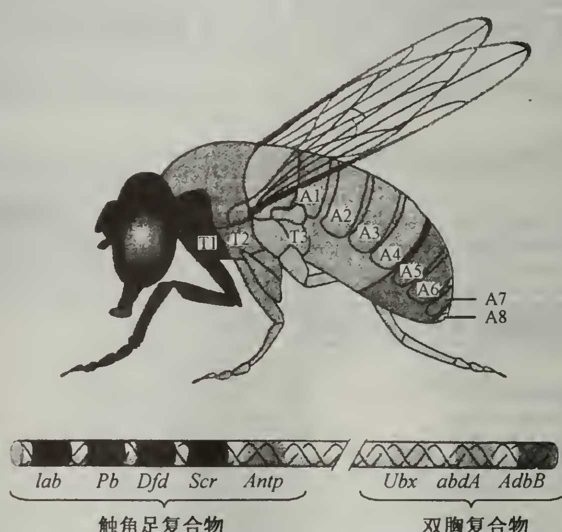


图 17-41　双胸复合物基因的空间表达形式对各副节发育模式的影响

野生型果蝇胚胎中 *Ultrabithorax*(*Ubx*)、*abdominal-A*(*abdA*)和 *Abdominal-B*(*AbdB*)的表达确定了各副节的发育个性。正常果蝇成体3个头节(C1~C3)融合在一起，长有口器、触角、眼等；3个胸节(T1~T3)，T1长有腿，T2长腿+翅，T3长腿+平衡器；8个腹节(A1~A8)

间隔基因和对控基因编码的蛋白质对HOM基因表达模式有调控作用，可是这些蛋白质产物约在4小时后即消失，因此要使同源异型基因继续准确表达，尚需要有其他基因来维持。与维持同源异型选择基因表达有关的基因有两群，即 *polycomb* 基因群和 *trithorax* 基因群。*polycomb* 基因群可继续抑制那些处于关闭状态的同源异型基因；反之，*trithorax* 基因群则维持原已打开的那些基因的表达。

(四)触角足复合物调控前部的分化

触角足复合物（Antennapedia complex）含有 5 个基因：*labial*(*lab*)，*Antennapedia*(*Antp*)，*Sex comb reduced*(*Scr*)，*Deformed*(*Dfd*)和 *proboscipedia*(*pb*)。*Lab* 和 *Dfd* 确定头部体节的发育，*Dfd* 发生突变影响 0,1 副节外胚层结构。*Scr* 和 *Antp* 的作用是确定胸部体节的特性，*Scr* 影响 2,3 副节；*Antp* 影响 4,5 副节。*Pb* 是在成虫中起作用，当发生缺失时，则口的唇须（昆虫下颚伸出的一对棒状突起）转变成腿。当 *Antp* 发生显性突变时，基因在头部和胸部都表达，结果头部成虫盘按胸部成虫盘发育模式发育，头部长出了腿；而在 *Antp* 阴性突变体中，*Antp* 在第二胸节中不表达，结果在长腿的部位长出了触角。

(五)HOM 基因的表达顺序与基因在染色体上的排列顺序一致

果蝇双胸复合物和触角足复合物的基因排列在第 3 染色体上，其结构具有显著的特点：①基因在两个复合物中的排列顺序与基因在发育过程中沿胚胎前后轴表达的时空顺序一致。例如，*Ultrabithorax* 在染色体上位于 *abdominal A* 的 3′一侧，那么它的表达模式也比较靠前，激活得也比较早。②在前部正常表达的 HOM 基因产物受到其较后部基因表达产物的抑制。

(六)脏中胚层中 HOM 基因表达调控邻近的肠管结构

前面我们只是谈到了体节极性基因 *engrailed* 与 *bithorax* 和 *Antennapedia* 复合物对外胚层结构，特别是表皮的作用。然而这些基因也在胚胎内部组织（如体、脏中胚层）中表达。体中胚层产生主要的躯体肌，而脏中胚层产生围绕肠管的平滑肌。双胸复合物在体中胚层中的表达模式比较简单，与在外胚层中的基本一致。可是在脏中胚层却比较复杂，HOM 基因的表达要诱导肠内胚层的模式形成。

发育中的中肠有三个缢痕（constrictions），其中第二个出现在第 7 副节处。大多数 HOM 选择基因在内胚层中不表达，内胚层的体节专一特性是由围绕肠管的脏中胚层 HOM 基因表达诱导产生的。双胸复合物在脏中胚层中的精细表达模式，与外胚层和中胚层中的有所不同。例如 *Ubx* 只在邻近第二缢痕的脏中胚层中表达，如果它不表达，则第二缢痕不发育，肠管不正常。

Ubx 本身在内胚层中不表达，它是通过对另外两个基因（*decapentaplegic* 和 *labial*）的作用影响肠管的发育。*labial* 基因是触角足复合物的一部分。在正常胚胎中，这两个基因在肠管缢痕区不同胚层中表达，*decapentaplegic*(*dpp*) 在脏中胚层，*labial* 在内胚层。如果 *Ubx* 缺失，则前两个基因都完全不表达。*Ubx* 蛋白可激活 *dpp* 在脏中胚层中表达。Dpp 蛋白随之从脏中胚层扩散到附近的内胚层，在内胚层中激活一条信号传递途径，从而激活 *labial* 基因，影响肠管的形态发生（morphogenesis）。由此可见，脏中胚层之所以能影响内胚层的模式形成，是以传递细胞外信号的方式，从一个胚层向另一胚层传递位置信息（图 17－42）。

二、果蝇成虫盘分化的基因调控

前面我们已提到，果蝇的附肢，如翅、腿等，是由成虫盘发育而来，不同的成虫盘发育成不同的附肢。成虫盘是由胚胎表皮内陷而成，不同性质的成虫盘与其来源体节的性质有关，不同体节产生不同性质的成虫盘。HOM 基因复合物确定体节发育的属性。在幼虫变态以前，成虫盘保持着未分化状态。幼虫阶段，成虫盘细胞进行分裂，盘囊外翻（类似于翻脱手套），并发生附肢发育。现以翅盘和腿盘的模式形成为例，介绍成虫盘的分化模式。

无论是翅盘还是腿盘都含有一条区界（compartment boundary），把盘分成前、后两个发育区。而在翅盘中还有第二条区界，介于二龄虫背和腹两个发育区之间（图 17－43）。变态阶段形成翅时，将来的腹表面折到背表面的下方，形成双层翅结构。

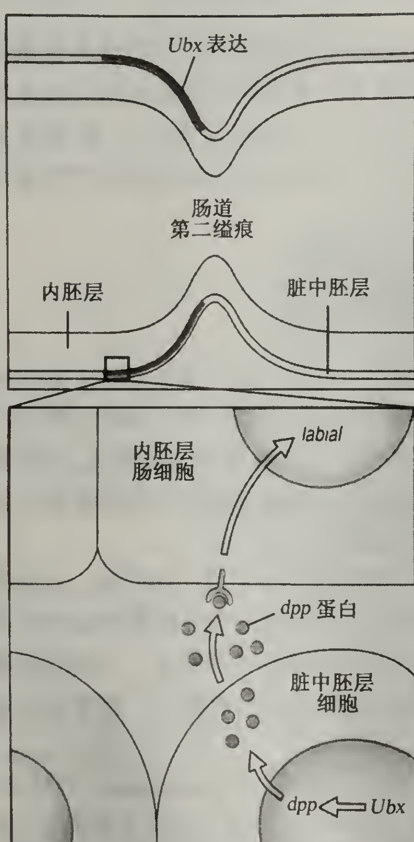


图 17－42　脏中胚层的基因表达对下方肠管内胚层模式形成的作用机制（说明见正文）

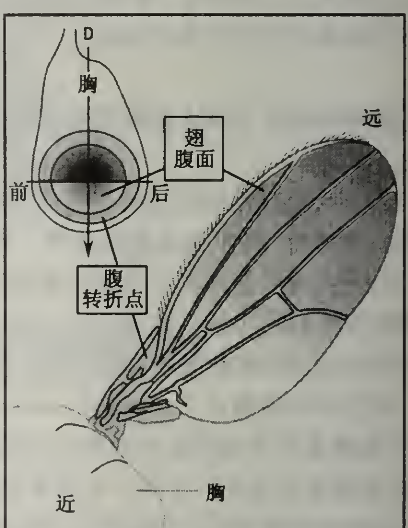


图 17－43　果蝇翅成虫盘发育命运图

在变态前，翅盘是一个卵圆形的上皮片，被一条界限分为前（A）、后（P）两个区。在将来翅的背表面（D）和腹表面（V）也有一条区界，变态时，腹表面折到背表面的下方（自，French, V. et al.　1994）

果蝇腿基本上是连接起来的上皮管。上皮细胞分泌硬的角质表皮，构成外骨骼。腿的内部为肌肉、神经和结缔组织。在外形上，腿和翅差别很大，但从来源上看，它们是同源器官，模式形成方式极为相似。

(一) 翅盘的分化

1. 翅盘模式形成信号由翅盘前、后区界部位发出

翅盘中，前、后区界所含的细胞形成了一个信号区，信号区沿翅的前后轴方向确定翅的模式形成。信号传递中心由一组级联反应组成。级联反应由翅盘后区(来源于第二副节前部)中 *engrailed* 基因的表达开始。*engrailed* 基因之所以在翅盘后区表达，与胚胎的早期发育有关。胚胎发育早期，*engrailed* 基因在每一副节的前半区中表达，后来副节的前半区变成了体节的后半区。产生翅盘的第二胸节是由第一副节后半区和第二副节的前半区组合形成，于是 *engrailed* 基因便在第二胸节的后区中表达，这种状况一直延续到幼虫的翅盘和成虫的翅中。

表达 *engrailed* 基因的细胞同时也表达体节极性基因 *hedgehog*。边界部位分泌的 hedgehog 蛋白诱导相近的前区细胞的 *decapentaplegic* 基因表达。hedgehog 蛋白可抑制通常对 *decapentaplegic* 基因表达起阻遏作用的蛋白质，从而使 *decapentaplegic* 基因得以被激活。

decapentaplegic 蛋白是 TGF-β 家族的一种信号传递蛋白，由区界部位分泌，在翅盘前区和后区模式形成中沿前后轴起位置信号的作用。翅的模式形成尚需要有 *spalt* 基因的表达，decapentaplegic 蛋白可提供长距离信号，调控 *spalt* 基因的局部表达。*spalt* 基因的表达与 *decapentaplegic* 基因表达形成重叠带，为翅的发育提供更高层次的调节。*spalt* 基因的表达发生在 decapentaplegic 蛋白的阈值水平部位(图 17－44)。

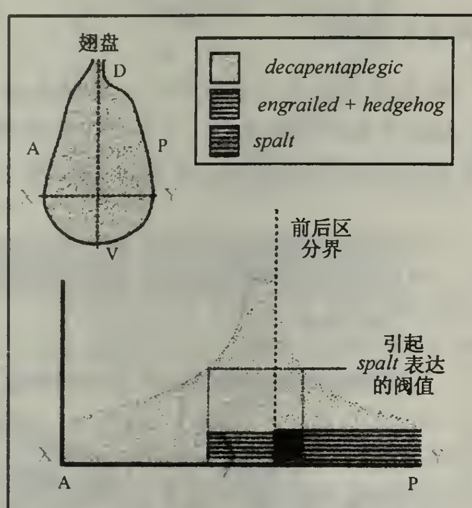


图 17－44　*decapentaplegic* 基因确定前后轴模式图解

图的下部示翅盘沿前后轴的横切面，*engrailed* 和 *hedgehog* 基因在后区中表达，在区界处 *decapentaplegic* 基因被激活，在前、后区中形成 decapentaplegic 蛋白梯度，在阈值浓度处激活 *spalt* 基因

2. 翅盘的背腹区界起模式形成组织中心作用

翅盘分为背区和腹区，分别发育为将来翅片的背面和腹面(图 17－45)。背区中同源异型选择基因 *apterous* 基因表达，其蛋白质产物与腹面细胞的受体(Notch 蛋白)相互作用使两面交界处形成翅缘。与前后区界一样，背腹区界也起组织中心的作用，信号传递分子为 wingless 蛋白，此蛋白质与脊椎动物中的 Wnt 蛋白属同一家族。wingless 蛋白在背腹区界处表达，其作用类似于 decapentaplegic 蛋白，在翅的前后模式形成系统中发挥作用。此外，在背腹边界处表达的基因还有 *vestigial* 基因，其作用是促进细

胞增殖。

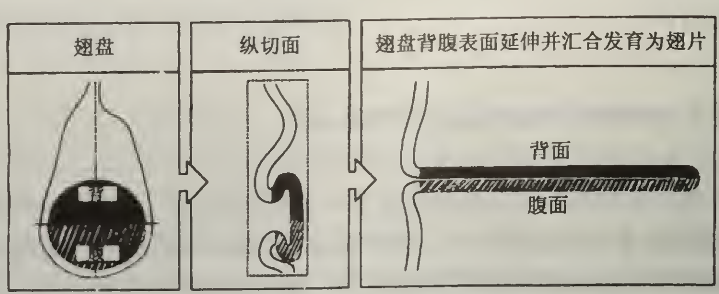


图 17－45　翅盘发育为翅片模式图

最初，翅盘的背面和腹面处于同一平面上，变态时经折叠和延伸，背面和腹面得以相互接触

(二)腿盘的发育

1. 腿盘发育模式

腿和翅在外形上差别很大，但是腿盘和翅盘的发育模式除了近远轴外基本相同。腿盘外翻时先形成了一个类似于歪倒的斜塔，塔体中央的尖端将形成腿的远端。在变态过程中，腿盘逐渐延伸成高塔形(图 17－46)。外翻的腿盘由一些同心圆组成，

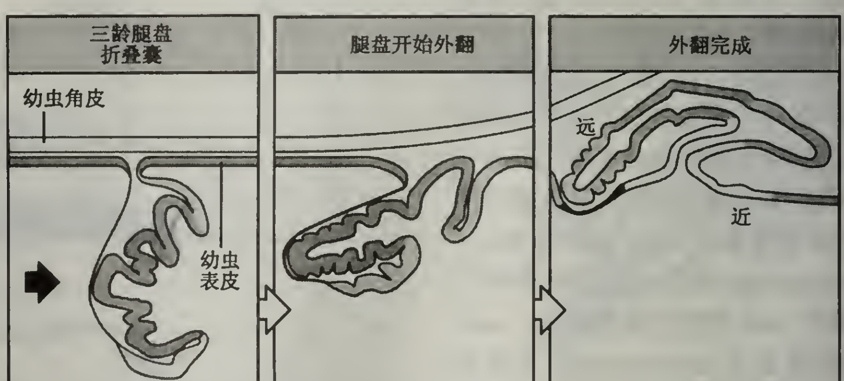


图 17－46　果蝇的腿盘在变态时延伸为塔形

胚胎表皮内陷成为腿盘，变态时盘外翻，形成一锥状结构，后来延伸为鞭形(自 Wolpert, L.　1998)

由塔体基部至尖端，每一个圆环将由近及远依次发育为成虫的一个腿节。最外面的圆环发育为腿的基部，与躯体相连；盘的中央分化为腿的远端(图 17－47)。

腿盘沿前后轴的发育模式与翅盘一样，第一步也是 *engrailed* 基因在后区中表达，并引起 *hedgehog* 基因表达。Hedgehog 蛋白在后区边缘产生一信号传递区。在腿盘的背区亦像翅盘一样，诱发 *decapentaplegic* 基因表达。但在腹区 Hedgehog 蛋白诱发的是 *wingless* 基因表达。wingless 蛋白起位置信号的作用。*wingless* 和 *decapentaplegic* 的表达通过相互抑制，使两个基因的表达保持互补模式。腿盘近远轴的建立也涉及到 wingless 蛋白和 decapentaplegic 蛋白的相互作用。腿的远端是由腿盘的中心分化而来，中心处 *Distal-less* 基因表达。*Distal-less* 基因表达的部位相当于 wingless 蛋白和 decapentaplegic

蛋白相遇部位，盘的近远轴由 *Distal-less* 基因的活性确立。*Aristaless* 基因与确定腿的最远端成分有关，其表达部位与 *Distal-less* 相同(图 17－48)。

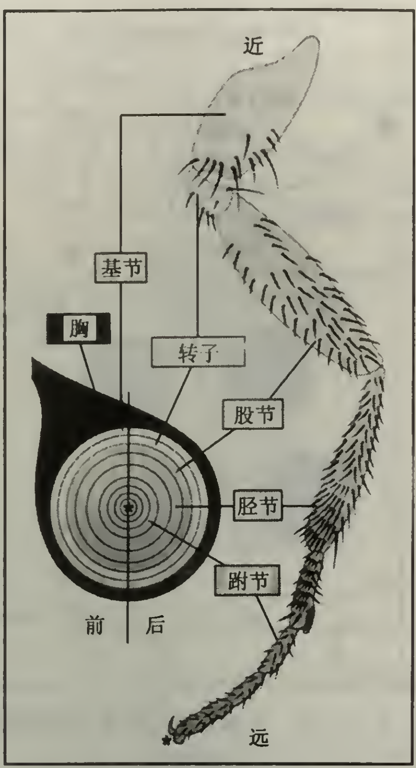


图 17－47　果蝇腿盘发育命运图

果蝇腿盘大体上是由一些圆环组成的上皮片，变态时盘的中心发育为腿的尖端，外环发育为腿的基部，其他环由外向内依次沿近远轴发育为各个腿节（自 Bryant, P. J.　1993）

2. 成虫盘的体节属性由同源异型选择基因决定

与腿和翅分化有关的信号都是相同的，如 decapentaplegic 蛋白。但是二者的实际发育模式却大不相同，也就是说腿和翅以不同的方式解译位置信息。这种解译是在 HOM 基因控制下进行的，现以腿和触角为例加以说明。例如，如果 *Antennapedia* 基因在头区中表达，则触角发育为腿。实验表明，突变的触角细胞也可以按腿细胞的分化方向发育，然而究竟分化成哪一种腿细胞，则依赖于细胞在近远轴上所处的位置。例如远端细胞分化为爪。触角和腿中的等位细胞具有相同的位置值，之所以导致两种结构的分化差异，关键在于位置信息的解译。翅盘和平衡器的发育也利用这一机制。昆虫和脊椎动物的发育原理是一样的，在附肢中都是利用同一位置信息，只是解译有所不同。

一个成虫盘的特性和位置信息究竟如何解译，是由 HOM 基因决定。昆虫的腿只由 3 个胸节发生，腹节上不长腿；翅长在第二胸节上；平衡器长在第三胸节上。这些结构具有体节专一性，这是由于特定类型的成虫盘来源于一定的副节。果蝇的腹部体节不

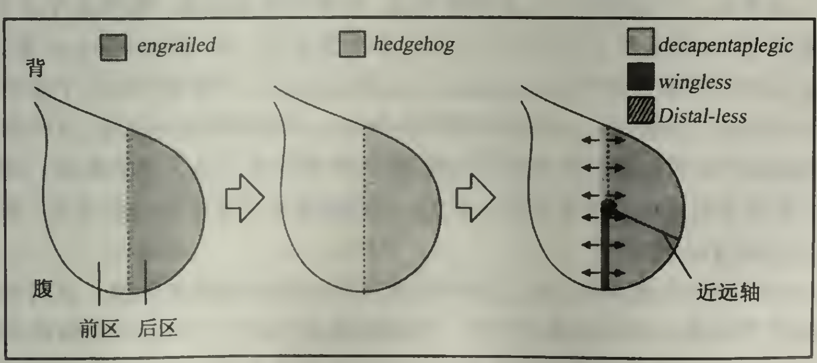


图 17－48　腿盘前后区的信号传递中心示意图

engrailed 基因在腿盘后区中表达，并引起 *hedgehog* 基因表达。hedgehog 蛋白在与前区细胞相遇处向后者传递信号，引起背区的 *decapentaplegic* 基因表达，而 *wingless* 基因在腹区中表达，这两个基因编码分泌蛋白。在 wingless 蛋白和 decapentaplegic 蛋白相遇处，激活了 *Distal-less* 基因，后者的表达确定近远轴的发育（自 Wolpert, L.　1998）

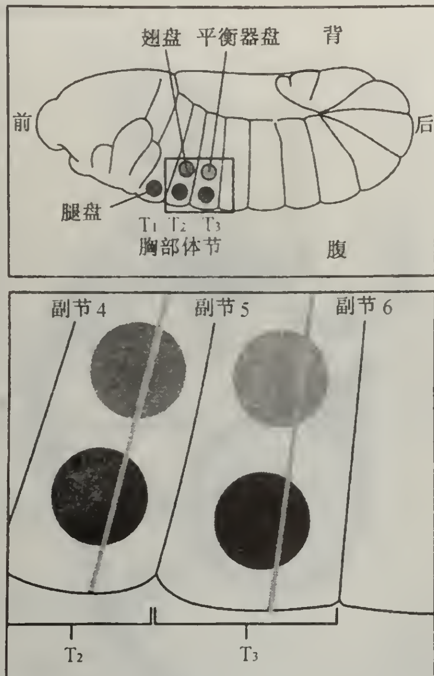


图 17 – 49　果蝇胚胎后期成虫盘形成附肢的位置

发生腿、翅和平衡器的成虫盘跨越各胸节（T_1、T_2 和 T_3）中的副节

长附肢，这是由于形成腿盘、翅盘和平衡器所需基因在腹部受到了抑制。一定的胸节产生特定类型的成虫盘，是由体节中的某一 HOM 基因表达所决定。例如，第 2 对腿和第 3 对腿的发育分别由 *Antennapedia* 和 *Ultrabithorax* 基因的表达决定。

腿盘是由第 3 到第 6 副节中的一小群细胞形成，这些副节将来发育成胚胎的胸部体节（图 17-49）。成虫盘是在胚层生长过程中形成，起初每个盘约只含有 25 个细胞。成虫盘产生在两个相邻副节的边界处，每一体节都含有一个体节的部分后区和后一体节的部分前区。发育早期，将来的第 2 胸节中的腿盘分裂出第二个盘，即翅盘；将来的第 3 胸节中的腿盘以同样方式分裂出平衡器盘。幼虫生长时，成虫盘体积增大，如翅盘增长了 1000 倍。果蝇成虫中的 HOM 基因发生突变，会引起区域专一的同源异型转化，如平衡器转变成了翅。正常果蝇的翅长在第 2 胸节上，平衡器长在第 3 胸节上，它们分别由位于 4/5 副节和 5/6 副节边界上的成虫盘发生。双胸复合物中的 *Ultrabithorax* 基因在第 5 和第 6 副节中表达，这与确定该两体节的特性有关。*bithorax* 基因突变（*bx*）引起 *Ultrabithorax* 基因错误表达，使第 3 胸节的前区转化成按第 2 胸节相应的前区发育，于是平衡器的前半部变成了翅。*post-bithorax* 基因突变（*pbx*），影响了 *Ultrabithorax* 基因的一个调节区，则平衡器的后区变成了翅。如果同一只果蝇发生了这两种突变，则突变效应复加，结果发育成了具有 4 片翅的果蝇个体，但这种个体不会飞。反之，如果发生另一种 *Haltere mimic* 基因突变，则会引起反向的同源异型转化（homeotic transformation），结果翅变成了平衡器。如果平衡器盘中发生 *Ultrabithorax* 基因突变（如 *bithorax*）的细胞形成克隆，这种细胞克隆会分化出翅结构，而且在位置上像在翅中一样，因而产生了嵌合性平衡器。这一现象表明，平衡器和翅盘中的位置值是一样的，在突变体中所发生的这些变化，都是由于如何解译位置值引起的。

上面我们以较长的篇幅介绍了果蝇模式发育中各类基因的作用，它们在各个发育阶段调节果蝇各种结构的模式形成，比较系统地反映了个体发生中细胞的遗传活动。表 17-3 列出了果蝇早期胚胎中与专一模式形成有关的主要基因及其作用。果蝇的基本发育模式在无脊椎动物和脊椎动物中具有一定的普遍意义，对果蝇发育模式的介绍有助于对动物界发育模式的理解。

表 17-3 果蝇早期胚胎中与专一模式形成有关的主要基因

	基因名称	Z/M	蛋白质性质	T/R/S	功能
前后系统	*bicoid*	M	同源异型区	T	形态发生素，激活合子 *hunchback* 和其他分隔基因
	hunchback	M	锌指	T	形态发生素，激活分隔基因
	nanos	M			抑制母体 *hunchbackm RNA*/蛋白质；与制作母体 hunchback 蛋白梯度有关
	gurken	M	TGF-α 家族蛋白	S	确定卵母细胞轴性
	exuperantia	M			母体 RNA 定位(如 bicoid mRNA)
	oskar	M			生殖质特化
端部系统	*torso*	M	受体酪蛋白激酶	R	激活专一末端
	torso-like	M		S	torso 蛋白配体
分隔基因	*hunchback*	Z	锌指	T	定位对控基因表达
	Krüppel	Z	锌指	T	同上
	Knirps	Z	锌指	T	同上
	giant	Z	亮氨酸拉链	T	同上
	tailless	Z	锌指	T	同上
对控基因	*even-skipped*	Z	同源异型区	T	确定奇数副节界限
	fushi tarazu	Z	同源异型区	T	确定偶数副节界限
	hairy	Z	螺旋襻螺旋	T	
体节极性基因	*engrailed*	Z	同源异型区	T	确定副节前区和体节后区
	hedgehog	Z	膜或分泌蛋白	S	
	wingless	Z	分泌蛋白	S	
	gooseberry	Z	同源异型区	T	
	patched	Z	膜	R	
	smoothened	Z	膜	R	
选择基因	*Ultrabithorax*	Z	同源异型区	T	组合活性赋予第 5～13 副节的属性
双胸复合物	*abdominal - A*	Z	同源异型区	T	同上
	Abdominal - B	Z	同源异型区	T	同上
触角足复合物	*Deformed*	Z	同源异型区	T	组合活性赋予前 5 个副节的属性
	Sex combs	Z	同源异型区	T	同上
	reduced	Z			同上
	Antennapedia	Z	同源异型区	T	同上
	labial	Z	同源异型区	T	同上
维持基因	*polycomb*	Z		T	维持同源异型基因表达状态
	bithorax	Z		T	
背腹系统					
母体基因	*Toll*	M	膜	R	激活导致背部蛋白进人核
	spatzle	M		S	Toll 蛋白配体
	dorsal	M		T	形态发生素，建立背腹极性
	cactus	M			与背部蛋白结合，阻止背部蛋白质进人核
	pelle	M/Z			
	tube	M			
	gurken	M	TGF-α 家族蛋白	S	确立卵母细胞轴性
合子基因	*twist*	Z	螺旋襻螺旋	T	确定中胚层
	snail	Z	锌指	T	同上
	rhomboid	Z	膜蛋白		赋予背腹轴区域特性
	single-minded	Z			同上
	zerknüllt	Z	同源异型区	T	同上
	decapentaplegic	Z	TGF-α 家族蛋白	S	同上
	tolloid	Z	BMP-2 家族蛋白	S	同上
	short	Z			同上
	gastrulation				

表中大写字母代称：M，母体的；Z，合子的；T，转录因子；R，受体；S，信号蛋白

同源异型基因对体节个性确定过程可表示为：

间隔基因和对控基因表达确定副节

↓

HOM 复合物选择基因按在染色体上的排列顺序沿前后轴有序表达

↙　　↘

触角足复合物　　双胸复合物

lab, pb, Dfd, Scr, Antp　　*Ubx, abd - A, Abd - B*

↓　　↓

确定头部体节和第 1 胸节的个性　　确定第 2 和第 3 胸节以及腹部体节的个性

果蝇虽小，但其发育全过程由简单到复杂，有条不紊，在动物发育模式方面具有一定的代表意义。果蝇从卵子发生经受精发育成成虫，大体上可分为几个主要的阶段，这些阶段紧密衔接，环环相扣，勾画出了一幅精美的图画。它向我们展示出，个体发生机制不是不可思议的。果蝇的发生可归纳为如下几个阶段，了解这一过程有助于对上述发育机制的理解。

卵子发生：卵原细胞经减数分裂发育为卵母细胞，卵母细胞与卵室的滤泡细胞相互作用建立了卵轴，母体因子在卵中定位分布

受精 ⟶ ↓

合子核分裂形成合胞体胚，核向胚的边周迁移，形成细胞胚。约 15 个核移至胚的最后端，形成极细胞，后分化为生殖细胞。母体因子激活合子基因，胚轴分区

↙　　↘

前后轴　　背腹轴

前后轴：

间隔基因表达

胚胎区分成宽的带区，诱发对控基因定位表达

↓

对控基因表达

胚胎产生 14 个副节

↓

体节极性基因表达

确定副节的前、后区，形成 14 个体节，3 个头节，3 个胸节，8 个腹节。原肠作用中形成胚带

↓

HOM 基因按在染色体上的排列顺序沿前后轴依次表达，确定体节个性和发育模式，不同体节表皮内陷，形成不同的成虫盘

↙　　↘

触角足复合物　　双胸复合物

确定头部体节和第一胸节个性，C1 ~ C3 融合，T1 产生腿盘　　确定第 2、第 3 胸节和腹节各体节的个性，胸节产生腿盘、翅盘和平衡器

↘　　↙

成虫盘前、后区界面处发出信号，调节成虫盘发育模式，形成器官

↘

背腹轴：

建立 dorsal 和 dpp 蛋白梯度

↓

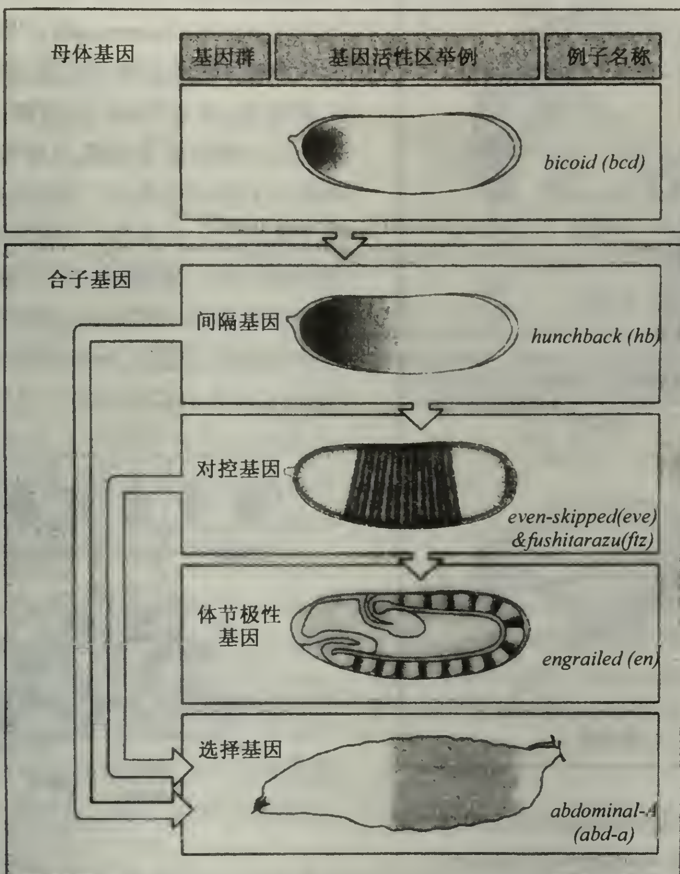
沿背腹轴分成几条纵带：预定中胚层、神经外胚层、表皮、羊浆膜受中胚层诱导，胚胎内部形成肠

↘

经变态发育为成虫

果蝇母体基因表达产物激活合子基因,在胚胎发育过程中依次表达可用下图表示:

果蝇建立躯体模式的不同组基因沿前后体轴的表达顺序



第六节 脊椎动物发育的体型形成

一、脊椎动物的基本发育过程

各类脊椎动物尽管在外形上有明显的差别,然而在躯体结构上却基本相似。它们都具有一条脊柱,脊柱中包围着一条脊髓,前端由脑壳包围着脑。这种结构模式便确定了脊椎动物的主要体轴——前后轴(antero-posterior axis)(头尾轴)。头在轴的前端,后接躯干,躯干上有成对的附肢。有的脊椎动物在脊柱的最后端尚有尾部。此外,脊椎动物尚有背腹极性,通常有脊柱的一侧为背侧。前后轴和背腹轴的存在就确定了动物体的左右侧。

脊椎动物在总体结构上的相似性,决定了它们在发育过程上的相似性。动物个体发育都是从受精卵开始,然后经过卵裂阶段(cleavage stage),形成了中央有腔的囊胚。例如,两栖类的球形囊胚,上半部为动物区,下部含卵黄多,为植物区。在动物区与植物区交接处,相当于赤道部位,称为边缘区(marginal zone),将发育为中胚层(图

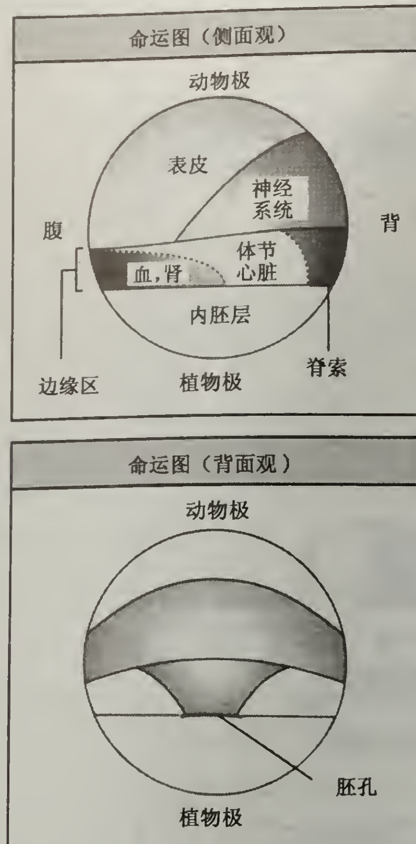


图 17－50　爪蟾后期囊胚的分区和命运图
外胚层产生表皮和神经系统，边缘区形成中胚层，沿背腹轴，中胚层产生脊索、体节、心脏、肾和血

17-50）；囊胚经过细胞运动（原肠作用），形成了原肠胚，经原肠作用产生了外、中、内三个胚层，在此基础上，发生形态建成运动（morphogenetic movement），形成了躯体的基本格式。在形态建成运动中，主要通过上皮折叠形成各种器官原基（organ rudiments）。器官原基是成体器官发生的起始结构。上皮折叠是由于细胞内部结构发生变化造成的。折叠时，与细胞的增生同时，有的部位的上皮细胞，有一端因微丝的收缩作用而变窄，于是细胞变成了一头宽，一头窄的楔形，造成了上皮局部凹陷（图 17－51）。

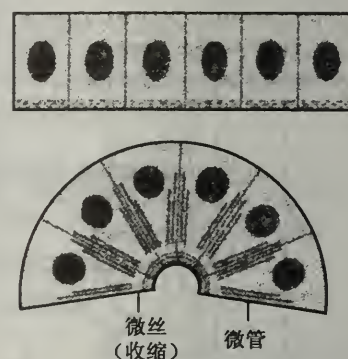


图 17－51　细胞形状发生改变造成上皮折屈示意图

关于形态建成运动的时空变化顺序和发育模式将在下面介绍

二、中胚层诱导信号

在形态建成运动中，中胚层对后来的发育模式起着相当关键的作用。动物早期胚胎的发育模式与其卵黄含量的多少有一定的关系。一般说来，早期囊胚的动物区将形成为外胚层，分化为表皮和神经组织；植物区将成为内胚层。它们的分化是由卵的母体因子确定。然而中胚层的发生却完全不同，它的形成完全依赖于囊胚植物区发出的诱导信号，通过区域组合实验证实了这种信号的作用。将爪蟾的动物区一小片组织同植物区一片组织合并一起培养，即可诱导动物区细胞由外胚层命运转变为中胚层。中胚层诱导信号为植物极区细胞的分泌分子，经扩散穿越细胞间隙发挥作用。信号分子经过向外扩散形成了浓度梯度，浓度低于一定的阈值时，则不发生中胚层诱导作用。在囊胚中期，植物极区发出的信号，诱导边缘区细胞的 *Brachyury* 基因表达，这些细胞发育为中胚层。

两栖类卵受精后，在精子入卵部位的对侧，产生一信号中心，称为 Nieuwkoop 中心 (Nieuwkoop center)（以其发现者 Nieuwkoop, P. D. 的名字命名）。精子入卵部位和 Nieuwkoop 中心的存在决定了受精卵的第一次卵裂面，也就是说第一次卵裂面是通过精子入卵部位和 Nieuwkoop 中心，从而将中心分为两半。由此中心发出的信号与背中胚层形成有关。所分泌的信号有：Vg-1 蛋白、激活素（activin）和头蛋白（noggin）等。Vg-1 蛋白是由母体基因表达的母体因子，属 TGF-β 家族成员。*Vg-1* mRNA 定位于植物极区，其翻译产物 Vg-1 蛋白为前体蛋白，须经加工才具有活性。Vg-1 蛋白因浓度不同而具有不同的诱导性能，在高浓度时诱导产生背中胚层，而在低浓度时诱导产生腹中胚层。激活素亦具有中胚层诱导活性，也因浓度不同而具有不同的性能，高浓度诱导产生脊索和肌肉，低浓度则只诱导产生肌肉。头蛋白（noggin）（因合成过多时，胚胎高度背部化，只形成头区，故名）mRNA 在受精卵中即已存在。头蛋白的作用是使边缘区组织背部化，它与腹部化信号 BMP-4 结合，使中胚层组织背部化。BMP-4 在囊胚后期表达，可诱导边缘区细胞成为后部中胚层，当其作用被阻断时，胚胎发生背部化。除了 BMP-4 蛋白外，FGF-2 也是一种由植物区分泌的腹部化信号（图 17－52）。

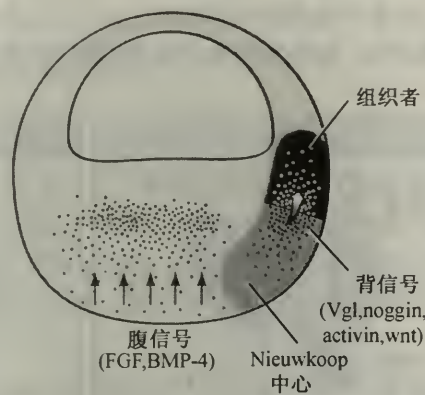


图 17－52 爪蟾中胚层诱导模式

植物区释放的腹部信号 FGF-2 诱导边缘层细胞成为中胚层，BMP-4 诱导边缘区细胞成为后部中胚层。在背侧，Nieuwkoop 中心的植物区细胞释放背部信号，诱导边缘区细胞形成 Spemann 组织者（胚胎背侧的一个信号中心，与前后轴器官形成有关）

三、体节的形成

经中胚层诱导，原肠胚产生了中胚层。中胚层由背面向腹面可分为 5 个区：①脊索中胚层，沿前后轴在背中线形成脊索，脊索诱导上方的外胚层形成神经管；②体节中胚层，在神经管和脊索两侧的中胚层增厚，并沿前后轴形成块状结构，即体节（somites）（图 17－53）；③中间中胚层（intermediate mesoderm），将形成泌尿系统和生殖管道；④侧板中胚层（lateral plate mesoderm），不分节，产生心脏、血管、血细胞、体腔间皮和肢体中除肌肉外的中胚层成分；⑤头部间充质，产生面部的结缔组织和肌肉。 随着体节中胚层的发育成熟，体节不同区域的细胞被限定分化为一定类型



图 17－53 鸡胚的体节和神经管扫描电镜图（自 Tosney, K. W. 1994）

图左上部在神经管两侧的轴旁中胚层已形成体节，而右下部的轴旁中胚层尚未分成体节

细胞。脊索和神经管分泌葡糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)和某些其他因子,诱使体节腹中线细胞进行有丝分裂，产生这些细胞的体节部分称为生骨节（scl-erotome)，生骨节细胞表达 *Pax1* 同源异型框基因,分化为脊椎骨、肋骨、软骨和韧带。体节的背部和侧部细胞构成双层实体结构——皮肌节（dermamyotome），皮肌节细胞表达同源异型框基因 *Pax3*。皮肌节形成生肌节(myotome)和生皮节(dermatome),前者产生肌细胞,后者产生皮肤的真皮(dermis)(表皮由外胚层产生)。体节中区细胞主要形成体轴肌和背肌,侧部细胞则向腹面迁移,分化成腹肌和四肢肌(图 17－54;17－55)。

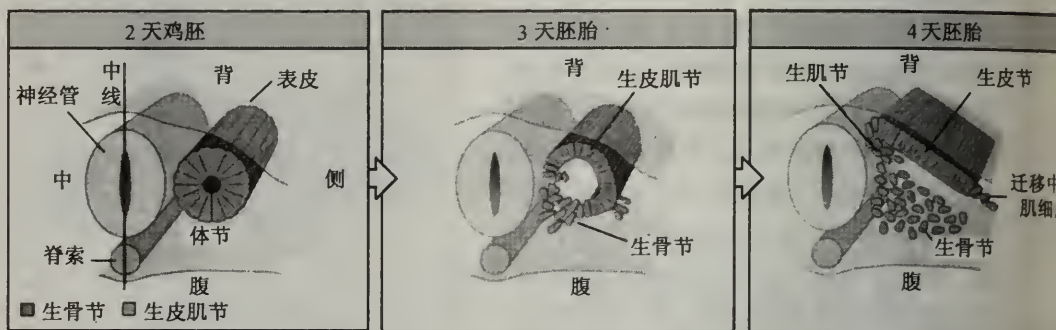


图 17－54　鸡胚体节发育命运图

体节腹中部 1/4 产生生骨节细胞,迁移到脊索和神经管周围,形成脊椎软骨;体节其余部分为皮肌节,形成生皮节和生肌节(自 Wolpert, L. 1998)

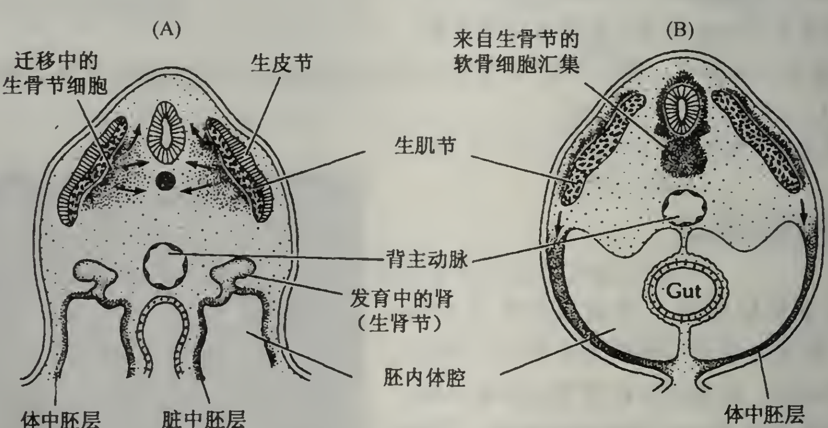


图 17－55　4 周人胚横切面示意图

4 周早期生骨节细胞开始迁移,离开生肌节和生皮节(A);4 周末,生骨节细胞在脊索和神经管周围集中,形成了软骨脊椎;生皮节开始形成真皮;生肌节沿胚胎壁向腹面延伸(B)(自 Langman, J. 1981)

在体节形成时,究竟哪些细胞形成软骨,哪些细胞形成肌肉或真皮,尚未决定。各个部分的发育命运依赖于体节相邻组织发出的信号。这些信号来自于脊髓和神经管,如果将脊髓和神经管切除,则体节将发生坏死,但四肢肌肉的发生不受影响。脊索和神经管腹区均可诱导体节分化为软骨,它们都可分泌由 *Sonic hedgehog* 基因编码的蛋白质。Sonic hedgehog 蛋白在许多发育过程中起位置信号的作用,它可确定体节的腹区分化;神经管背区和上覆的非神经性外胚层确定体节背部的分化。BMP-4 蛋白因子和

Wnt 家族信号蛋白分别起侧部和背部信号的作用。

来自脊索和神经管的信号对体节中的 *Pax* 同源异型框基因具有调节作用，这种调节作用确定了体节细胞的分化命运。最初，*Pax3* 基因在所有即将形成体节的细胞中都表达，后来受 BMP-4 和 Wnt 家族蛋白的调节，则限于在肌肉前体细胞中表达。再进一步调节细胞分化为背部肌肉。

四、Hox 基因沿前后轴确定体节的位置特性

前体节中胚层不分节，后来才形成体节。各个体节在分化上有明显的差异，各有各的特征。例如脊椎的发育，最前端颈椎发育成适合于与头骨相连的形状；胸椎有肋骨相连，后面则为无肋骨的腰椎，再后则特化为骶椎、尾椎。此外，沿前后轴体节又以另一种模式形成肌肉、软骨和真皮。由此可见，前体节细胞由于在前后轴上所处的位置不同，而各有不同的发育命运，这说明沿前后轴处于不同位置的细胞具有不同的位置值(positional values)。

在所有脊椎动物中，沿前后轴的模式形成都要涉及到一组基因的表达，这组基因沿体轴确定位置特性。这组基因即是 *Hox* 基因。*Hox* 基因是同源（异型）框基因(homeobox genes)大家族的成员，它与许多种发育过程有关。位置特性(或位置值)对胚胎发育过程网络配置具有重要意义，也就是说一个细胞或一群细胞因在一定时间所处的位置而获得了专一状态，并决定了其以后的发育命运。

同源异型框基因沿前后轴确定位置特性的现象，最初是在果蝇(*Drasophila*)中发现的，这给发育生物学家以重要启迪。后来发现，脊椎动物体轴的模式形成也与同源异型框基因有关。所有的同源异型框基因都为 DNA 结合蛋白编码。这些 DNA 结合蛋白起转录因子的作用，像果蝇中的一样，也含有一段相似的 DNA 结合区。此区亦是由 60 个氨基酸构成，称为同源异型区(homeodomain)。同源异型区也是一个螺旋 - 转角 - 螺旋的 DNA 结合结构域(helix-turn-helix DNA-binding motif)，此结构是许多 DNA 结合蛋白的共有的特征。同源异型框基因为此结构域编码的区段，称为同源框(homeobox)。脊椎动物的 *Hox* 基因与果蝇中可确定体节特性的 HOM 基因群相对应(图 17 - 56)，*Hox* 基因可分为 4 个基因群，即 *Hox-A*，*Hox-B*，*Hox-C* 和 *Hox-D*。在昆虫和脊椎动物中，同源异型框基因的每一基因群的表达都具有一定的时空顺序，这一顺序与其在染色体上的排列顺序一致。在染色体上排列的基因，沿胚胎的前后轴依次有序表达。对小鼠的研究表明，虽然基因表达沿胚胎前后轴有所重叠，但是沿前后轴的每一个区域的前缘都由特定的一组 *Hox* 基因表达所界定。例如，最前端的体节表达 *Hoxa1* 和 *Hoxb1* 基因，指导前脑和中脑的发育，在此区中无其他基因表达，反之在最后部 *Hox* 基因全部表达。每一基因的表达前缘极为明确，但其后方则无明确的界限(图 17 - 57)。

Hox 基因的活性是为细胞提供位置特性，*Hox* 基因的缺失或过分表达会引起体轴发育模式的改变。例如，小鼠 *Hoxa3* 基因缺失会造成头、胸部发生严重的结构缺陷，中胚层和外胚层都受到了影响。然而 *Hox* 基因的活动并不那么单一，有的彼此之间可以相互影响，也可发生补偿效应。一个 *Hox* 基因的活动具有组织专一性，敲除(knock - out)一个基因，有的组织受到影响，而处在同一位置的其他组织的基因却表达正常。

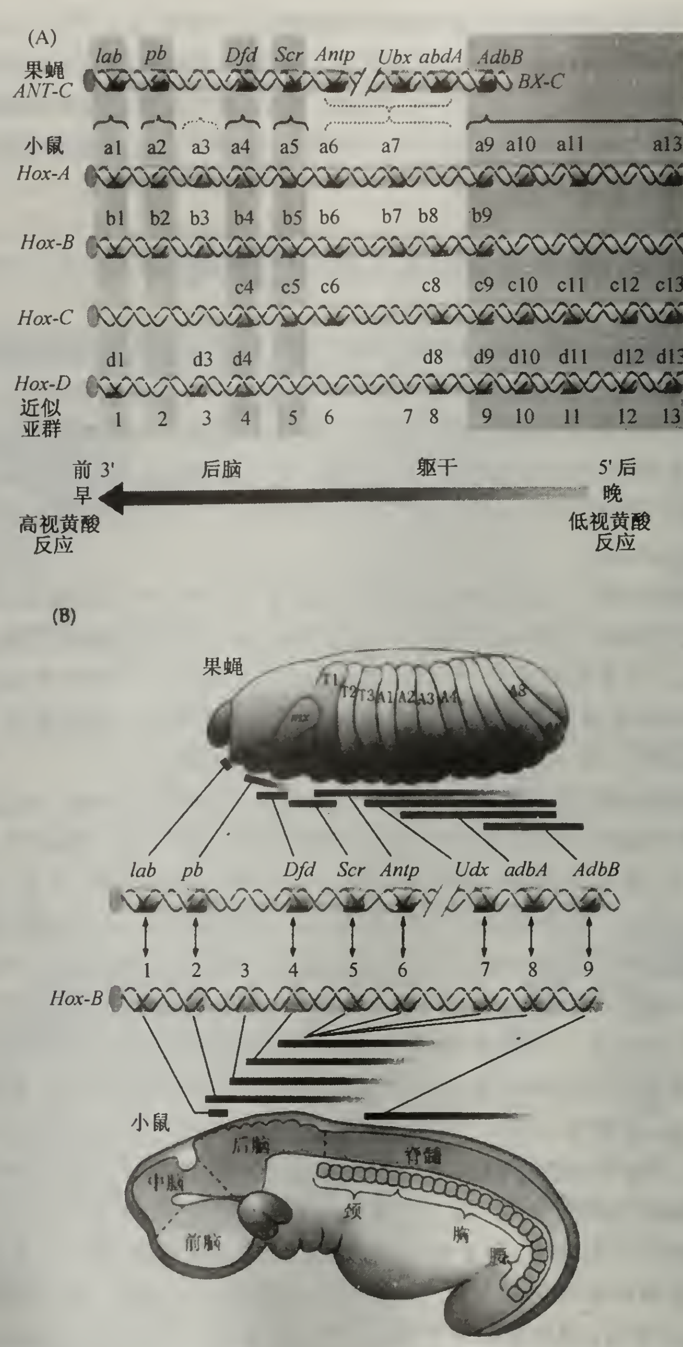


图 17－56　果蝇与小鼠同源异型基因的结构和表达的进化保守性

(A)示果蝇 3 号染色体同源框基因与小鼠基因组中的 Hox 基因群之间的保守性，基因由 3′末端到 5′末端排列，近 3′末端的基因在胚胎的较前部表达，而近 5′末端的则在较后部表达。具有相似结构的基因在四条染色体上的相对位置相同，而且同一群中的基因表达模式相同。(B)示 10 小时果蝇的 *HOM-C* 基因与 12 天小鼠胚胎转录模式的比较（自 Krumlauf et al.　1993）

Hox 基因功能的丧失往往引起同源异型转化，及身体的一部分转变成了另一部分，正像前面所介绍的果蝇触角足突变一样。小鼠的 *Hoxc8* 基因正常是在胸区表达，自原肠胚以后，则移向胚胎后部表达。如果敲除 *Hoxc8* 基因，那么具有 *Hoxc8* 纯合子

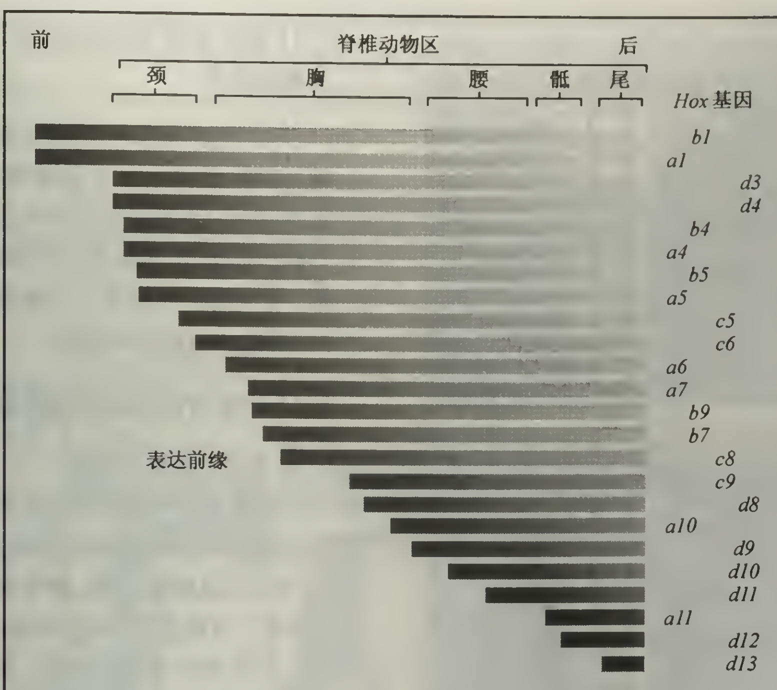


图 17－57　小鼠中胚层 *Hox* 基因沿前后轴的表达模式

Hox 基因表达模式可确定不同位置的组织的特性，体轴前部中的表达模式与后部完全不同。每一基因的表达前缘极为明确，而向后延续的后缘模糊不清

突变的小鼠出生后几天即死亡，它在第 7 胸椎到第 1 腰椎之间发生异常，最明显的同源异型转化是第 1 腰椎变成了带肋骨的胸椎（图 17－58）。又如敲除 *Hoxb4* 基因，则第 2 颈椎转变成了第 1 颈椎；*Hoxa5* 基因缺失，则引起第 7 颈椎变成了带肋骨的胸椎。

五、肢体的发育

肢体开始发育时，首先在胚胎体壁两侧一定的部位发生小的突起，称为肢芽（limb bud），由肢芽发育为肢体。肢体以三个轴向发育：近远轴（proximo-distal axis），近端（肢体基部）与体壁相连；前后轴（antero-posterior axis）与前后体轴平行；背腹轴（dorso-ventral axis）与背腹体轴平行。肢芽中有两个与肢体生长、发育有关的关键性信号传递区，一个是在肢芽远端的间充质细胞群，此即为肢芽前进区（progress zone），它是由未分化的细胞组成，增殖迅速。前进区外面覆盖着一层厚的外胚层上皮，称为顶外胚层嵴（apical ectodermal ridge）。另一个是位于肢芽基部后缘的极化区（polarizing region），其作用是沿肢体前后轴确定肢体的发育模式（图 17－59）。顶外胚层嵴是由紧密排列的柱状细胞组成，细胞间广泛存在间隙连接（gap junction）。顶外胚层嵴对其下方的前进区具有诱导作用，并调控肢体近远轴的模式形成。前进区中快速增生的间充质细胞促使肢芽生长。肢芽的主要成分是：中央为一由间充质中胚层构成的芯；外被以一上皮外胚层。肢体的肌肉组织是由体节细胞迁入形成。

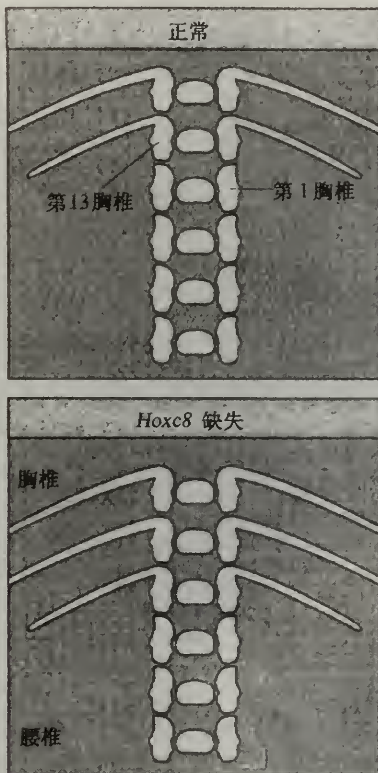


图 17－58　小鼠 *Hoxc8* 基因缺失引起脊椎同源异型转化

Hoxc8 纯合子突变体的 *Hoxc8* 功能丧失，第 1 腰椎转化成了带肋骨的胸椎。突变引起腰椎向更前部的结构转化

(一) 顶外胚层嵴发出影响下方间充质分化的信号

如果把鸡的肢芽顶外胚层嵴（顶嵴)切除，肢芽生长显著减慢，而且肢体远部丧失。肢体丧失部分的大小与顶嵴切除时的发育时期有关，切出的时期越早，丧失的部分越大。在晚期阶段切除时，仅造成指的远部丧失。

(二) 顶嵴与前进区之间存在相互作用关系

鸡胚顶嵴发出的主要信号是成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor, FGF)家族蛋白质，整个顶嵴都表达 FGF-8，顶嵴后区表达 FGF-4。实验证明，只要 FGF-4 供应充足，生长的间充质细胞可发育成很完整的肢体。反之，顶嵴特性的维持需要有前进区和极化区发出的信号，如果除去这些成分，前进区不再提供维持信号，顶嵴即消失。

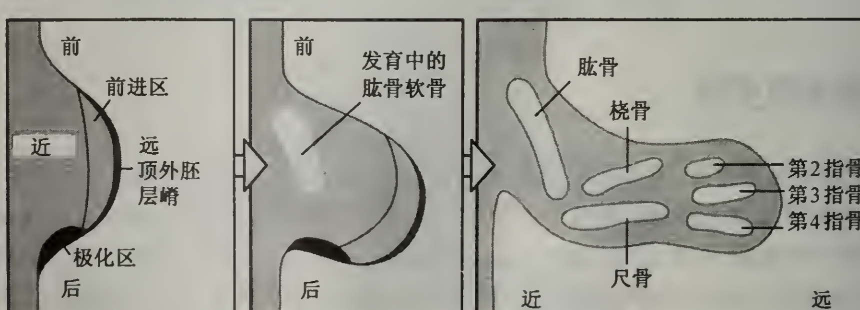


图 17－59　前进区细胞获得位置值

顶外胚层嵴确定肢芽远端间充质组织形成前进区。随着肢芽的向外生长，前进区细胞增生，并获得位置值。当细胞离开前进区时，软骨开始分化，沿近远轴顺序形成软骨成分，随之肱骨开始出现。由极化区发出的信号沿前后轴确定细胞的位置值

(三)极化区沿前后轴确定位置值

脊椎动物的肢芽极化区具有发出信号的性能。鸡翅指的正常是－2 3 4－，如果将一个早期翅芽的极化区移植到另一个早期翅芽的前缘，那么后者指的发育模式就变

为 - 4 3 2 2 3 4 - ，即变成了一个具有镜像对映模式（mirrior-image pattern）的翅（图 17 - 60）。极化区表达 *Sonic hedgehog* 基因，所表达的产物 Sonic hedgehog 蛋白与许多模式形成过程有关。Sonic hedgehog 蛋白具有浓度效应，第 4 指的发育比第 2 指需要更高浓度的 Sonic hedgehog 蛋白。

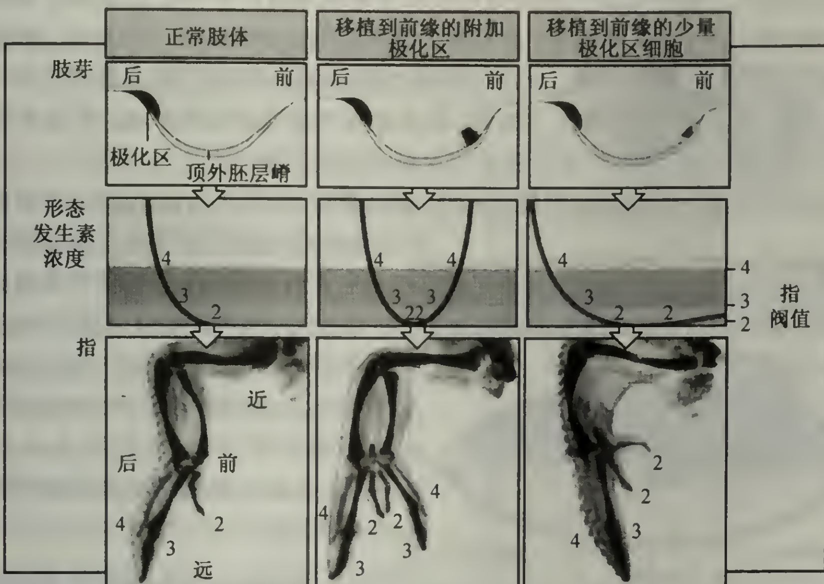


图 17 - 60 极化区可沿前后轴确定翅的发育模式

极化区是形态发生素的来源，信号的不同阈值浓度可确定不同指的发育。将一块极化区移植到翅芽的前缘，形成信号镜像对映浓度梯度，结果造成了指的镜像对映重复现象。如果移植的极化区仅为少数几个细胞，那么就只能长出 1 个附加指 （自 Wolpert, L. 1998）

Sonic hedgehog 蛋白尚有维持顶外胚层嵴和前进区功能的作用，如果敲除 *Sonic hedgehog* 基因，则发育的肢体只有近部结构，而无远部结构。

另外，还有其他几种分子与脊椎动物肢体中的位置信号传递有关，例如生长因子 BMP-2 和 BMP-4，二者在前进区中形成梯度，肢芽后缘最高。Sonic hedgehog 蛋白可诱导表达 BMP 生长因子。极化区之所以具有维持顶嵴发挥作用的功能，即是通过 BMP-2 和 BMP-4 实现的。

（四）前后轴中的位置由时间机制确定

随着肢芽的生长，细胞陆续离开前进区，最先离开前肢前进区的细胞发育成肱骨，最后离开的则形成指尖。因此在肢芽的发育过程中，前进区好像存在着一种计时装置，记录细胞在前进区中的存留时间。计时机制是计算细胞分裂次数，根据分裂次数的多少便沿近远轴确定了位置值。实验表明，如果切除顶嵴，则前进区细胞即不能继续分裂，也就不能形成较远部的结构。

(五)背腹轴受外胚层调控

鸡翅的背腹轴结构有明显的差异，如只在背面长有大羽毛；肌肉和腱也有复杂的背腹结构特征，这些结构上的差异可以作为背腹轴向的指标。把鸡胚的左右翅芽切下，再将外胚层与间充质剥离，然后颠倒外胚层轴向后再与间充质重组，将重组的芽体嫁接到鸡胚的侧面。一般，长出的肢体，近部的背腹极性与正常肢体一致，然而远部，特别是"手"部，背腹轴发生颠倒，肌肉和腱的背腹轴变成了与外胚层的背腹轴相对应。这说明，外胚层具有确定肢体背腹模式形成的能力。

鸡趾的外貌亦表现出背腹模式特征，趾的腹面(相当于掌面)无毛，而背面长毛。这种发育模式依赖于外胚层的作用。研究表明，外胚层的这种调控能力与基因表达有关。肢芽的背外胚层表达 *Wnt-7a* 基因，腹外胚层表达 *engrailed* 基因。*Wnt-7a* 基因编码一种分泌性信号蛋白，可诱导下方的间充质 *Lmx-1* 基因表达。*Lmx-1* 基因与确定背部的发育模式有关(图 17－61)。

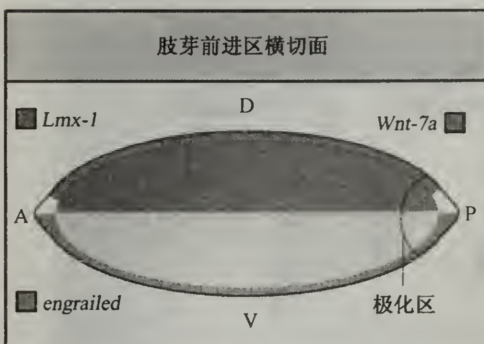


图 17－61　外胚层影响肢体背腹发育模式的基因调控机制示意图

Wnt-7a 基因在背外胚层中表达，*engrailed* 基因在腹外胚层中表达，*Wnt-7a* 基因的表达产物可诱导下方的背中胚层的 *Lmx-1* 基因表达，*Lmx-1* 基因决定背部结构的发育

(六)同样的位置信号经不同解译产生不同的肢体

鸡和各种脊椎动物中调控前、后肢模式形成的位置信号是一样的，但是对前后肢的位置信号的解译却不相同。例如，将一个翅芽的极化区移植到一个腿芽的前缘，结果所诱导产生的结构不是翅指，而是脚趾。因为极化区所发出的信号，是由腿细胞来解译。甚至把小鼠或人的肢芽极化区移植到鸡的翅芽前缘，所诱导出的结构同样是附加的翅结构。如果将小鼠的顶外胚层嵴移植到鸡的顶外胚层嵴处，也可向肢体早期发育提供恰当的信号。因此，无论是不同的极化区，还是不同的顶外胚层嵴，所发出的信号是一样的。之所以产生不同的结构，关键在于所发出的信号被如何解译。这种解译的差异依赖于反应细胞的遗传特性和发育过程。

脊椎动物的前肢和后肢的发育过程不同，这与肢芽在前后体轴上所处的位置有关。不同脊椎动物的同源肢体之所以有差别，是由于调控位置信息解译的基因激活不同造成的。

(七)肢体位置的确定和模式形成与同源框基因有关

脊椎动物沿前后体轴确定位置的 *Hox* 基因也在肢体中提供位置值。在鸡的肢体发育过程中至少需要 23 种不同的 *Hox* 基因。研究得比较多的是 *Hoxa* 和 *Hoxd* 两个基因群。这两个基因群与果蝇中的 *Abdominal-B* 基因之间有亲缘关系，它们在前肢和后肢中都表达。而 *Hoxb* 和 *Hoxc* 基因群则分别局限在前肢与后肢中表达。

在翅芽发育的一定阶段，*Hoxd9* 至 *Hoxd13* 基因在肢体后缘的前进区中先后依次启动表达，结果不同的基因沿肢体的前后轴各有一定的表达区。先表达的区域大，后表达的区域小，故在表达区域上基因间都有一定的重叠。*Hoxd9* 基因表达所占的区域最大，而在最后部 *Hoxd9* 至 *Hoxd13* 基因都表达。*Hoxa* 基因群在前进区中的表达也有类似的情况（图 17-62）。*Hoxa* 基因表达的近远顺序恰好与肢体的三个主要的近远部分相对应，前肢上部 *Hoxa9* 表达区形成肱骨；*Hoxa9-11* 表达区发育为桡骨和尺骨；*Hoxa9-13* 表达区形成腕和指。

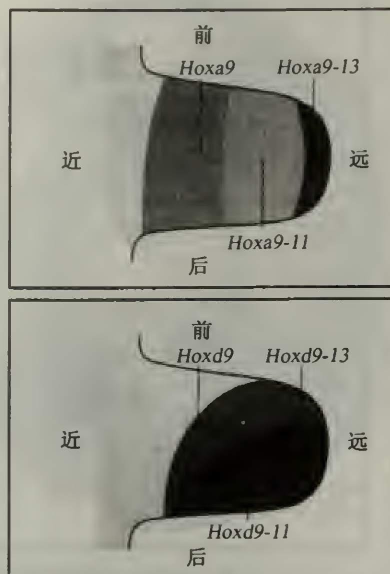


图 17-62　鸡翅芽的 *Hox* 基因表达模式
Hoxa 基因沿近远轴的表达模式，*Hoxa9* 基因的表达跨度最大（上图）；*Hoxd* 基因沿前后轴也有类似的表达模式（下图）

Hox 基因可记录位置信息，改变肢体中 *Hox* 基因表达，可引起同源异型转化。然而，情况并不那么简单，肢体的软骨成分并不单由一个基因编码，例如敲除手中的一个 *Hox* 基因，并不会使一个手指转化成另一个手指，却可使手中的许多骨的大小和形状发生改变，并产生新的成分。但是如果敲除几个基因则对软骨成分的发育产生严重的影响。例如敲除 *Hoxa11* 和 *Hoxd11* 基因，即导致缺少桡骨和尺骨。又如 *Hoxa13* 基因(通常在肢芽远部表达）过度表达，会导致桡骨和尺骨变小；*Hoxd13* 基因过度表达，则会导致腿的长骨变短。这是由于这两个基因对生长的软骨中的细胞增殖速率有影响。

Hox 基因沿前后体轴确定肢芽的发生位置，这与 FGF 生长因子的表达和极化区的形成有关。胚胎侧部在表达 FGF 的部位形成顶嵴和极化区。对小鼠的研究表明，*Hox* 基因确定极化区的发生位置，*Hox* 基因的组合作用决定前肢在前后体轴上的位置，敲除 *Hoxb5* 基因，前肢芽发生的位置前移。*Hox* 基因沿前后体轴确定 FGF 的表达部位，在这些部位发生顶嵴和极化区，于是肢芽的发生位置得以确定。鸡胚发生翅芽和腿芽的部位，中胚层中 *Hox* 基因表达模式不同，不同的表达模式决定了肢芽究竟形成翅，还是形成腿。

(八)肢体肌肉的发育模式由结缔组织确定

肢体中的肌细胞与结缔组织来源于两个不同的细胞系，这在体节移植实验中得到证实。例如，将鹌鹑的体节植入鸡胚的将发生翅芽的相当部位，那么长成翅后，经分析肌肉细胞来源于鹌鹑，而其他所有细胞来源于鸡。在肢芽发育的很早期阶段，将来形成肌肉的细胞即由体节迁人肢芽。迁人后，将分化为肌肉的细胞增殖，组成了预定肌肉的背块和腹块。这些预定肌肉块再进行多次分裂，形成了最后的单个肌块(muscle masses)(图 17－63)

肌肉的模式形成机制不同于软骨和结缔组织，后二者在前进区中即获得了位置信息，而预定肌细胞并没有获得位置信息，它们的分化潜能是等值的。实验表明，如果

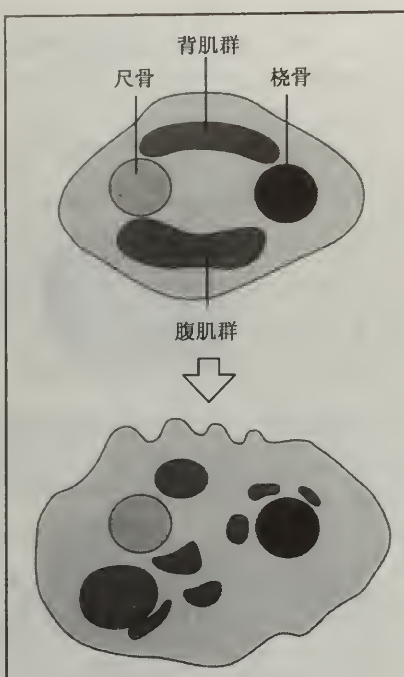


图 17-63 鸡翅的肌肉发育过程示意图

鸡翅产生软骨后不久经桡骨和尺骨的横切面，示与顶嵴细胞组成背肌块和腹肌块，这些肌块再进行一系列分裂形成了单块肌肉

用早期胚胎的颈部体节置换出正常的翅体节，虽然发育成的翅中的肌肉来源于颈部体节，但仍发育成正常的翅肌肉模式。这说明，肌肉的模式形成决定于肌细胞迁入的结缔组织细胞，而不决定于肌细胞本身来源。预定的肌肉相关结缔组织（muscle-associated connective tissue）具有可被肌细胞识别的粘合表面，诱引肌细胞迁入。因此，肌肉的发育模式决定于肌肉相关结缔组织的模式，决定的机制与软骨的模式形成机制相同。随着生长发育，由于结缔组织的模式发生改变，那么预定肌细胞就会迁入新的部位。因此，肌块之所以分裂即是由于这种变化造成的。

（九）前后肢发育模式的差异

脊椎动物前后肢的形态结构有很大的差异，特别是鸟类，前肢发育为翅，后肢发育为腿。Logan 和 Tabin 发现，在后肢发育中 *Pitx1* 和 *Tbx4* 基因一直表达，而在前肢中这两个基因不表达；前肢中有 *Tbx5* 基因表达。*Pitx1* 和 *Tbx4* 基因的表达产物为转录因子。他们将 *Pitx1* 基因插入到病毒基因组中，然后用这种病毒去感染鸡胚中将发生翅的区域，结果长出的前肢具有明显的后肢特征。例如，鸡翅通常是在相当于腕关节处折向下方，皮肤长毛。可是感染后长出的前肢不像翅，而像腿：骨骼长而直，且具有像鸡腿一样的踝——足关节；且皮肤不长羽毛，甚至肌肉结构也具有后肢的特征。测试结果表明，*Pitx1* 不是单独起作用，引起这些变化，而是通过启动 *Tbx4* 基因表达实现的，通常 *Tbx4* 基因是在后腿中专一表达。*Pitx1* 在前肢中的错误表达，引起前肢远端 *Tbx4* 及 *HoxC10* 和 *HoxC11* 诸基因表达，后两个基因通常也只是限于在后肢中表达，指导后肢的发育。这一实验表明，前后肢的发育差异同样受基因正确表达的调控。

第七节 植物发育的细胞和遗传活动

一、植物发育的基本过程

（一）胚胎发育

高等有花植物的个体发育亦是从受精卵（合子）开始，通过卵裂形成多细胞胚。虽

然卵裂形式因物种类别不同而异，但一般第一次卵裂都为不对称分裂，合子分裂成一个小的顶细胞（apical cell）和一个大的基细胞（basal cell），从而为胚胎建立极性打下了基础。顶细胞含有致密的细胞质，将来形成胚胎本体；基细胞含有大的空泡，将形成囊柄(suspensor)（图 17－64）。

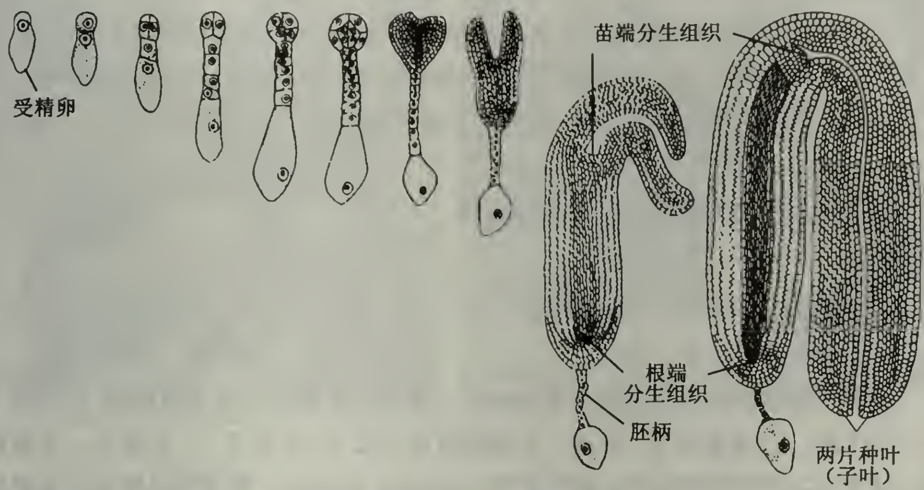


图 17－64　植物早期胚胎的细胞分裂

二倍体胚胎细胞进行增殖，形成一个球形细胞团，后发生极化，再后分成了两个关键性细胞群。一群在胚胎的囊柄端，将来生成根；另一个在相对的一极，将来生成苗。所建立的苗根轴相当于动物的头尾轴。这两个顶端细胞群对植物的生长发育极为重要，称为顶端分生组织（apical meristems）。每一顶端分生组织由具有自我组建能力的干细胞所组成。分生组织后方的细胞组织长大，并分化。由苗、根分生组织分化出叶、根和茎。在顶端分生组织的外面仍保留着许多具有增生能力的细胞，因而树木和多年生植物茎和根每年可增大身围。顶端分生组织的生长大体上可分为三个阶段，即分裂、生长（延伸）和分化。例如，根尖的生长可按细胞所处的阶段不同而分为三个区：紧随根冠后面的为分裂区，再后为生长区（根的延长主要靠此区），再后为分化区（图 17－65）。

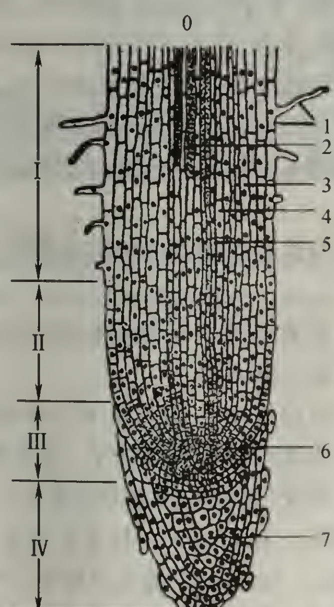


图 17－65　根尖的纵切面

示根尖的结构和分区。Ⅰ. 成熟区；Ⅱ. 伸长区；Ⅲ. 分生区；Ⅳ. 根冠区　1. 表皮及根毛；2. 导管；3. 皮层；4. 内皮层；5. 中柱鞘；6. 顶端分生组织；7. 根冠

（二）顶端分生组织决定生长和发育模式

在植物形态发生过程中，细胞的分裂和延长起了重要作用。顶端分生组织终生保持活力，通过顶端生长，长出大小和形状固定的叶和花。顶端分生组织之后有秩序地产生节（nodes）

和节间(internodes),在节上长出叶。因此,在分生组织不断生长的过程中,不断以重复模式形成许多功能单元(modules),每一单元都是由茎、叶和芽所组成。单元间由支持组织和运输组织相连。苗端分生组织形成中央圆顶(central dome),它是顶端分生组织的本体。在中央 圆顶的周围是一些处于不同发育阶段膨大的叶原基(leaf primordia)。叶原基及其邻近的细胞长成叶、节和节间。因此,在苗端的小区内已经包含有若干个单元,顶端分生组织可不断地产生新的叶原基和功能单元,终生延续不断。由此可见,植物产生一系列单元是受苗端的调控。苗端的局部信号决定了原基的生成模式,使叶原基保持一定的距离和相对布局,顶端分生组织也保持一定的相对位置。

二、苗分生组织细胞的发育命运

(一)位置效应

双子叶植物的苗分生组织产生柄和叶。苗分生组织由三层细胞构成,分别由 L1、L2、L3 代表。L1 在最外层,仅由一层细胞构成。L2 在 L1 的下方,也是由一层细胞组成。L1 和 L2 两层细胞均进行垂周分裂(anticlinal division),即细胞分裂面与细胞层垂直,从而保持着细胞的分层结构。L3 为最内层,细胞可进行各个方向的分裂。L1 和 L2 称为原套(tunica),L3 称为原体(corpus)。被子植物中,L1 层产生表皮,而 L2 和 L3 既参加皮层形成,也参加维管结构。虽然在很长的一段生长期中,三层细胞在分生组织中央区都保持着各自的特性,但偶尔 L1 和 L2 也会发生平周分裂 (periclinal division)(分裂面与分生组织表面平行),新细胞侵入了邻层。可是,细胞的发育命运则按所处的新位置进行,而不受来源分生组织细胞层的决定。在叶开始形成时,L2 层被细胞平周分裂所破坏,产生细胞团结构,这种结构称为原基(primordium)(图 17 – 66)。根据对拟南芥(*Arabidopsis*)的研究表明,细胞所处的位置是细胞命运的决定因素。特定的细胞谱系与特定结构之间没有必然的相关性。

(二)分生组织细胞命运的遗传调节

究竟有哪些基因调控分生组织细胞行为和保持细胞处于不受限制的多能状态,迄今尚了解不多。

目前发现, *SHOOT MERISTEMLESS* 基因与分生组织细胞的发育命运相关。该基因的表达产物为转录因子,蛋白质中含有一个同源异型区。在拟南芥中,如果该基因发生突变,则缺少顶端分生组织。玉米中,*knotted-1* 基因与 *SHOOT MERISTEMLESS* 基因同源。*knotted-1* 一旦发生突变,则会在叶片的侧脉周围产生组织派生物——结节(knots)。knotted-1 蛋白只存在于分生组织和维管组织中,可使细胞保持在未分化的多能状态。在转基因植物中,knotted-1 蛋白过度表达,则会在叶表面形成小的异位苗,这是由于 *knotted-1* 基因发生异位表达所致。knotted-1 蛋白通常只在 L2 和 L3 层中合成,但发现 L1 层中也存在这种蛋白质,说明此种蛋白质可在细胞间传递,传递途径可能是胞间连丝。

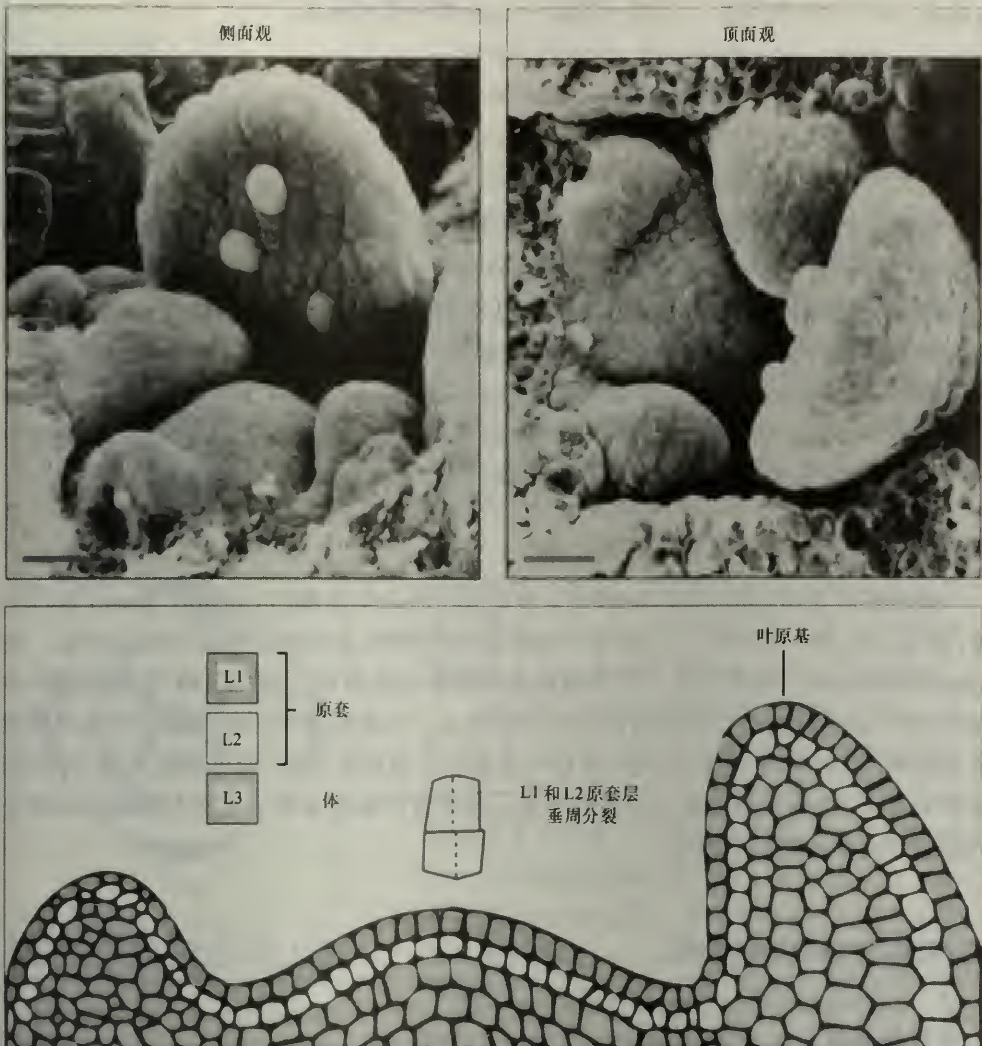


图 17－66　拟南芥的顶端分生组织发育

上图材料取自发生 *clavata1-1* 突变的拟南芥植株，在这种突变体中顶端展宽，便于更清楚地观察叶原基(L)和分生组织(M)。扫描电镜图显示出幼苗顶端分生组织结构。下图为苗顶端纵切面观的三层分生组织结构示意图，说明见正文(电镜图取自 Griffiths，M.　1998)

三、花的发生

(一) 花分生组织的产生

高等植物的花含有生殖细胞，是物种传代的重要器官。花是由花分生组织(floral meristem)分化而来。花分生组织是苗分生组织转化产生，对大多数植物来说，营养苗分生组织转化为花分生组织主要受环境因素的影响，如昼长和温度。花和花器官(萼片(sepals)、花瓣(petals)、雄蕊(stamens)和心皮(carpels))的结构相当复杂。花的一般

结构是,从外向内按萼片—花瓣—雄蕊—心皮顺序排列组成。

(二)花分生组织转化的控制因素

1. 外部因素

前面我们曾提到过,环境因素对花分生组织的转化有调控作用。大多数有花植物在发育过程中有一个营养期,在这一时期中顶端分生组织产生叶。受环境信号(如昼长)的启动,植株转向生殖期,产生了花。从营养生长到开花发生的转变(trsition)有两种类型:有限型(determinate type)转变和无限型(indeterminate type)转变。在有限型中,花序(inflorescence)分生组织变成顶生花(terminal flower);而在无限型中,花序分生组织产生了许多花分生组织。拟南芥的转变即属无限型,在营养生长过程中,苗分生组织产生叶,同时在每一片叶的基部产生一新的潜在分生组织。

2. 遗传调控

拟南芥对花诱导信号的初级反应,是花分生组织个性基因(identity genes)进行转录,如 *LEAFY* 和 *APETALA1* 的转录。这些基因的突变,可引起花的部分转化为苗。在 *LEAFY* 突变体中,花转化成了绕茎螺旋排列的萼片状器官。而 *LEAFY* 在整棵植株中表达,足可决定侧苗分生组织转向花的发育命运。在拟南芥中,起 *LEAFY* 作用的基因是 *FLORICALA*,只要 *FLORICALA* 仅在一层苗分生组织中表达,即可使花发育,并引起通常不表达 *FLORICALA* 的分生组织层表达花发育所需的基因。这充分说明,一层分生组织可诱导相邻层的发育。

(三)花器官个性形成的调控

1. 花的基本构式

在开花苗中,苗分生组织转化成了花序分生组织(inflorescence meristem),后者可形成一个或多个花分生组织,每一个形成一朵花。花分生组织通过细胞分裂模式的调整,以及随后细胞的分化和长大,产生了花器官原基(floral organ primordia),每一个原基发育成花的一个部分。一朵花是由 4 层同心圆式的轮环结构组成(图 17-67)。最外面的一轮为第 1 轮,形成萼片(sepals);第 1 轮的内侧为第 2 轮,形成花瓣(petals);再向内为第 3 轮,形成雄性生殖器官——雄蕊(stamens);最内一轮为第 4 轮,由分生组织中央发育成的两个心皮(carpel),此为雌性生殖器官。拟南芥的花分生组织中有 15 个分开的原基,将分化成全部的花器官:4 个萼片,4 个花瓣,6 个雄蕊和一个由 2 个心皮构成的雌蕊(pistil)。各个原基在花分生组织的特定位置上产生,分别发育成特征性的结构。对金鱼草(*Antirrhinum*)花的研究表明,在花的发育过程中,特定轮的细胞谱系有一定限制,正像果蝇胚胎分区的细胞谱系限制一样。那么各种花器官又是如何确定下来的呢?在下面对此加以讨论。

2. 花器官细胞位置个性的确定

(1)同源异型突变与 ABC 模型:花的同源异型突变(homeotic mutation)也像在果

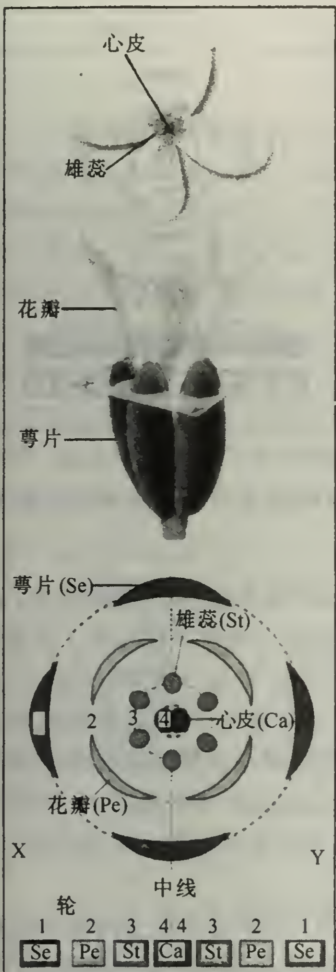


图 17-67 拟南芥花的结构图式

花呈辐射对称结构，最外层为 4 片一样的绿色萼片，往里为片一样的白色花瓣，花瓣内为一圈 6 个雄蕊，花的中心是 2 个心皮。下图是花的横切面图解

蝇中发生的现象一样，可引起花的一种结构被另一种结构所代替，使花发育异常。例如，*apetala2* 基因突变，萼片即被心皮所代替；又如在 *pistillata* 突变体中，花瓣被萼片和雄蕊所代替。

拟南芥中花的同源异型突变可分为三类，每一类都影响着相邻的两轮器官。第 1 类突变，如 *apetala2* 突变，即影响着第 1 轮和第 2 轮，在第 1 轮中，由心皮替代萼片；在第 2 轮中，由雄蕊替代花瓣。于是，花的表型图式由外向中心为：心皮—雄蕊—雄蕊—心皮。第 2 类同源异型突变影响第 2 轮和第 3 轮，例如在 *apetala3* 和 *pistillata* 突变体中，第 2 轮由萼片替代花瓣，第 3 轮由心皮替代雄蕊，花的表型变为：萼片—萼片—心皮—心皮。第 3 类突变影响第 3 轮和第 4 轮，在第 3 轮中由花瓣替代雄蕊，第 4 轮中产生萼片或变异结构。例如，*agamous* 突变即属第 3 类，在花的中心额外长出了一组萼片和花瓣，替代了生殖器官。

为了对上述突变现象作出解释，Meyerowts, E. M. 等(1991)提出了 ABC 模型，后来的实验表明，这一模型是合理的。他们主张，可把花分生组织分成 3 个重叠区，即 A，B 和 C。每一区即相当于一类同源异型基因活动区。A 区包括第 1 轮和第 2 轮；B 区包括第 2 轮和第 3 轮；C 区包括第 3 轮和第 4 轮(图 17-68)。A，B，C 三区的调节功能分别用 a, b, c 代表。a, b, c 的组合作用赋予每一轮以专一的个性 (identity)。从而使各轮器官具有一定的特性(图 17-69)。a 在第 1 轮和第 2 轮中表达；b 在第 2 轮和第 3 轮中表达；c 在第 3 轮和第 4 轮中表达。此外，a 功能抑制第 1 轮和第 2 轮中的 c 功能；c 功能在第 3 轮和第 4 轮中抑制 a 功能，也就是说 a 功能与 c 功能是相互排斥的。在花的分生组织中，只存在 a 活性的第 1 轮将发育成萼片；第 2 轮中 a 和 b 共同作用则发育成花瓣；b 和 c 共同作用使第 3 轮形成雄蕊；第 4 轮中 c 单独作用发育成心皮。于是，花由外向内的正常发育形式是：花萼 (a) →花瓣 (a + b)→雄蕊 (b + c)→心皮 (c)。a, b, c 功能发生突变，则会导致花器官发生同源异型突变。第 1 类突变中，a 功能受到破坏，于是第

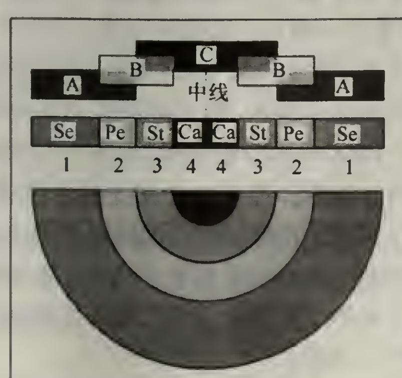


图 17-68 拟南芥花分生组织三个重叠区示意图

A，B，C 三个区分别相当于第 1 和第 2 轮，第 2 和第 3 轮，第 3 和第 4 轮

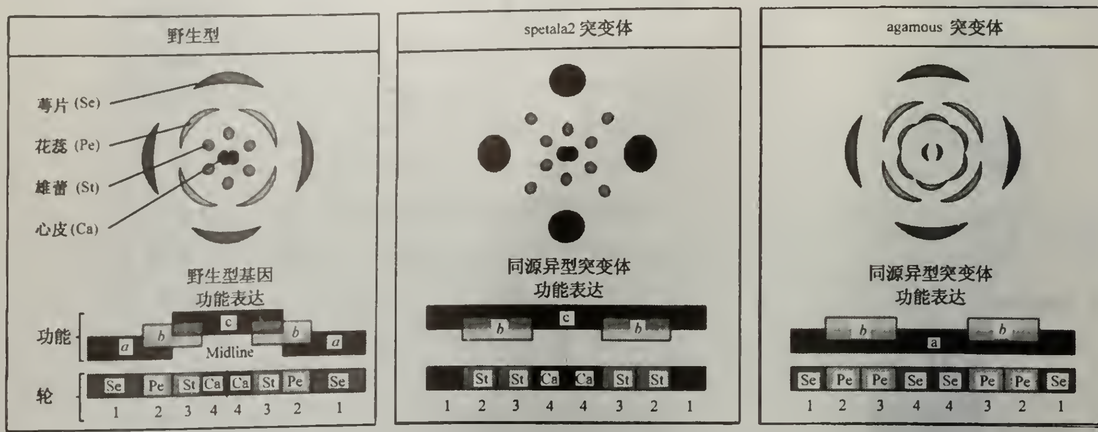


图 17－69　拟南芥花的模式形成模式图

左图示野生型花，a、b、c 3 种调节功能分别在第 1 和第 2 轮，第 2 和第 3 轮，第 3 和第 4 轮中表达；中图示 *apetala2* 突变体；右图示 *agamous* 突变体（说明见正文）

1 轮和第 2 轮的 c 功能受不到抑制，从而使 c 在所有各轮中都表达，花的表型变为：心皮(c)—雄蕊(b + c)—雄蕊(b + c)—心皮(c)。第 2 类突变中，b 突变导致在第 1 和第 2 轮中只有 a 起作用，c 在第 3 和第 4 轮中起作用，花的表型为：萼片—萼片—心皮—心皮。第 3 类突变是 c 功能基因发生突变，导致 a 在所有各轮中都起作用，结果花的表型为：萼片(a)—花瓣(a + b)—花瓣(a + b)—萼片(a)。用 ABC 模型可圆满地解释同源异型突变现象，以及各个基因的调控功能。A 功能相当于 *apetala2* 功能基因；b 相当于 *apetala3* 和 *pistillata*；c 相当于 *agamous*。此模型也能解释双突变表型，如 *apetala2* + *apetala3*；*apetala3* + *pistillata*。

(2)同源异型基因的调控作用：与在动物中一样，花的同源异型突变受同源异型基因的控制。当上述 3 类基因都缺少时，花则变成了由同样的叶状器官轮环所组成，这可以看作是分生组织发育的基态(ground state)。如果在基态基础上，将各个基因分别加进去，就可测试出各个基因的功能。实验表明，当加入 *a* 功能基因时，则所有的花器官都发育为萼片；加入 *c* 基因时，则花器官全部为心皮；加入 *a* 和 *c* 时，花呈现半花表型：萼片—萼片—心皮—心皮。这表明了 *a* 与 *c* 的相互抑制作用。实际上 *b* 类基因只在 B 区(第 2 和第 3 轮)表达，在花分生组织开始形成萼片原基时，首先测出有 *b* 类基因 *apetala3* 表达。而 *c* 类基因 *AGAMOUS* 是在产生第 3 和第 4 轮的分生组织中表达。

DNA 序列分析表明，由花个性基因(floral identity genes) APETALA1 和 *AGAMOUS* 编码的同源异型蛋白含有由 58 个氨基酸组成的保守序列，称为 MADS 框，此序列可同 DNA 结合。在酵母和动物的转录因子中也存在 MADS 框，这表明花个性基因与果蝇中的同源异型选择基因极为相似，都为转录因子编码。*c* 类基因 *AGAMOUS* 的表达抑制第 1 和第 2 轮的 *a* 功能，结果花的表型与丧失 *a* 功能一样，由心皮替代了萼片，雄蕊替代了花瓣。

在拟南芥中发现，同源异型基因的的空间表达模式亦受基因的调控，这些基因称为地籍基因(cadastral genes)，如 SUPERMAN 基因。此基因如发生突变，第 4 轮的心皮即被雄蕊所替代。SUPERMAN 的作用是阻止 *APETALA3* 和 *PISTILLATA* 在第 4 轮中表达。*SUPERMAN* 在第 3 轮中表达，即可保持第 3 轮与第 4 轮间的边界。

第八节 再　　生

生物成体丢失的组织或器官重新生长和修复的过程称为再生 (regeneration)。植物的再生能力最强,一个体细胞即可产生一棵完整的植株。在动物界中,一般看来,无脊椎动物的再生能力要高于脊椎动物。有的动物的再生能力很强，如海星（棘皮动物)、扁虫(*Planarias*)和水螅(*Hydra*)等,这些动物的一小片组织即可再生成一个结构和功能齐全的个体,它们的强再生能力与它们进行无性繁殖有关。动物再生能力最强的一个例子是海鞘(*Ascidians*), 它的一个血细胞即可生成一个完整的个体。但是再生能力的强弱在进化上并没有严格的对应关系。例如,与水螅亲缘关系较近的水母(同属腔肠动物),再生能力就很弱。又如线虫(*Nematode*), 完全没有再生能力。在脊椎动物中,蝾螈和其他有尾两栖类的再生能力相当强。例如,蝾螈的晶状体切除后,虹膜的色素上皮细胞可再生出晶状体(图 17-70)。

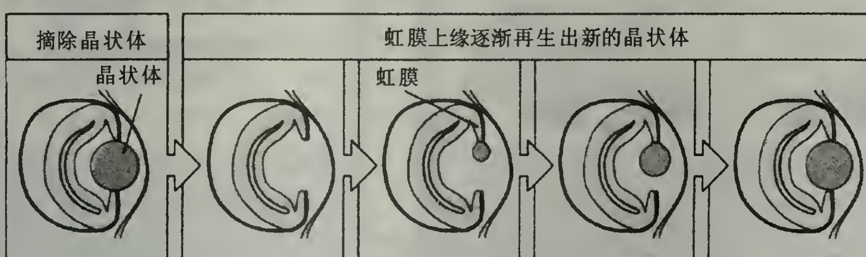


图 17－70　蝾螈晶状体再生示意图

晶状体切除后,由虹膜上缘色素上皮再生出新的晶状体

由于再生过程与细胞增殖和组织、器官的模式形成在机制上有一定的相关性,故列入本章介绍。

一、再生的类型

根据再生过程的方式不同,而将再生现象分为两类。

(一)变形再生

变形再生(morphallaxis)主要是通过尚存组织重新进行模式形成和重新建立边界而进行的再生过程。再生时保存下来的结构中的位置值发生了改变,重新表现出原有结构的发育模式,随之按比例进行扩大生长,完成再生。

(二)新建再生

新建再生(epimorphosis)依靠新的生长,重新组建失去的结构,高等动物的再生即属此类,如蝾螈肢体的再生。

图 17－71 列出了两类再生方式的图解。

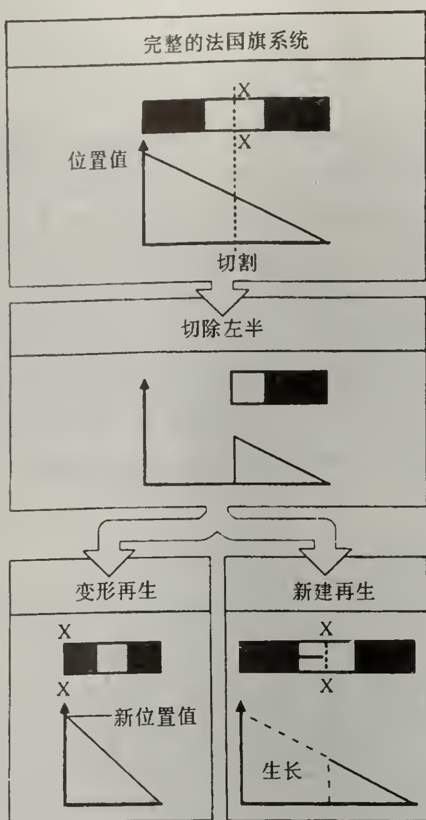


图 17-71　变形再生与新建再生的比较
上图框借用法国国旗的图式表示位置值梯度的确定，中图框示系统被切去一半，下图框示再生过程的两种途径，在变形再生中，在切面处建立了新的边界，整个位置值发生了改变；新建再生中，新的位置值由切面生长确定

二、再生与去分化

再生不是由所余细胞直接产生。再生时，分化细胞要先失去其结构和功能特征，而处于一种未分化状态，这一变化过程称为去分化（dedifferentiation）。在动物中，去分化细胞具有胚胎间充质细胞的功能，可再进行分化；在植物中，去分化细胞变为薄壁细胞，组成愈伤组织（callus），由愈伤组织再生出丧失的部分或再生植株。去分化往往随之即发生再分化（redifferentiation）。然后再分化成其他种类的细胞，由分化细胞经去分化，再分化成它种细胞的变化过程称为转分化（transdifferentiation）。

在动物中，对有尾两栖类肢体的再生研究得比较详细，其再生过程大体上包括以下几种变化。

(1) 蝾螈的前肢被部分切除后，伤口处细胞间的粘合性减弱，表皮细胞通过变形运动移向伤口，形成细胞单层，封闭伤口。封闭伤口的细胞层称为顶帽（apical cap）或顶外胚层帽（apical ectodermal cap）。

(2) 顶帽下方的细胞，如骨细胞、软骨细胞、成纤维细胞、肌细胞和神经细胞，迅即发生去分化，失去了分化特征，并分散开形成一团去分化细胞。这一去分化的细胞团称为再生胚芽（regeneration blastema）。胚芽细胞类似于胚胎性未分化细胞，可塑性很强，能继续增生，并分化成新的肢体结构。

三、去分化的调控机制

(一) Rb 蛋白的作用

蝾螈的肢体再生时，肌细胞又重新进入细胞周期，进行细胞分裂。在成体中，肌细胞是一种高度分化的细胞，退出了细胞周期，不再分裂。肌细胞退出细胞周期与 Rb 基因的表达产物视网膜瘤（retinoblastema, Rb）蛋白的去磷酸化有关。去磷酸化的 Rb 蛋白可同特定的基因调节蛋白结合，使后者无法激活与细胞分裂相关基因的转录。当细胞外信号（生长因子）经胞内级联传递，激活 G_1 周期蛋白－Cdk（cyclin-dependent protein kinase, 周期蛋白依赖蛋白质激酶）复合物后，后者又激活 S 周期蛋白－Cdk 复合

物，激活的 S 周期蛋白－Cdk 复合物使 Rb 蛋白磷酸化而失去活性，失活的 Rb 蛋白释放出基因调节蛋白，于是引起细胞重新进入细胞周期，发生分裂增殖（图 17－72）

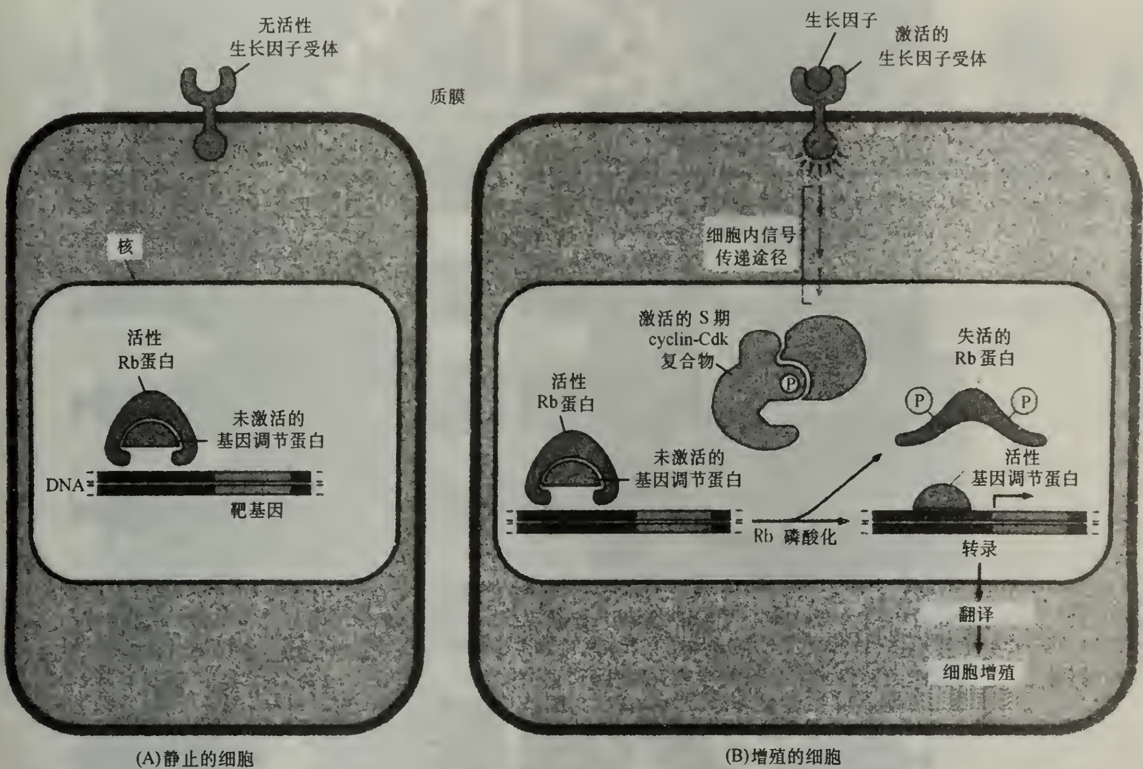


图 17－72　生长因子刺激细胞增殖过程图解

（A）无生长因子时，去磷酸化的 Rb 蛋白与专一基因调节蛋白结合，调节蛋白处于无活性状态；（B）生长因子与细胞表面受体结合，激活细胞内信号传递途径，进一步激活 G_1 周期蛋白－Cdk 复合物，这些复合物使 Rb 蛋白磷酸化并失活，于是基因调节蛋白即可游离出来，激活靶基因的转录，使细胞分裂（自 Alberts, et al. 1998）

（二）神经对胚芽生长的支持作用

实验表明，胚芽的生长必须有神经的存在，胚芽生长时有神经进入和分布。如果把神经切除，胚芽则不能生长。神经的作用是为胚芽的生长提供生长因子，如胶质细胞生长因子（glial growth factor, GGF）或成纤维细胞生长因子（fibroblast growth factor, FGF）。

四、肢体再生与位置值

（一）肢体胚芽产生截面以远的结构

肢体再生往往从远端向着截面进行，重新添补上肢体失去的部分。如果从手腕部位截断，则只有腕和指再生；如果截面是在肱骨中部，那么截面以远的全部结构，包括失去的肱骨远部，都会再生出（图 17－73）。因此，沿肢轴的位置值对肢体的再生极为

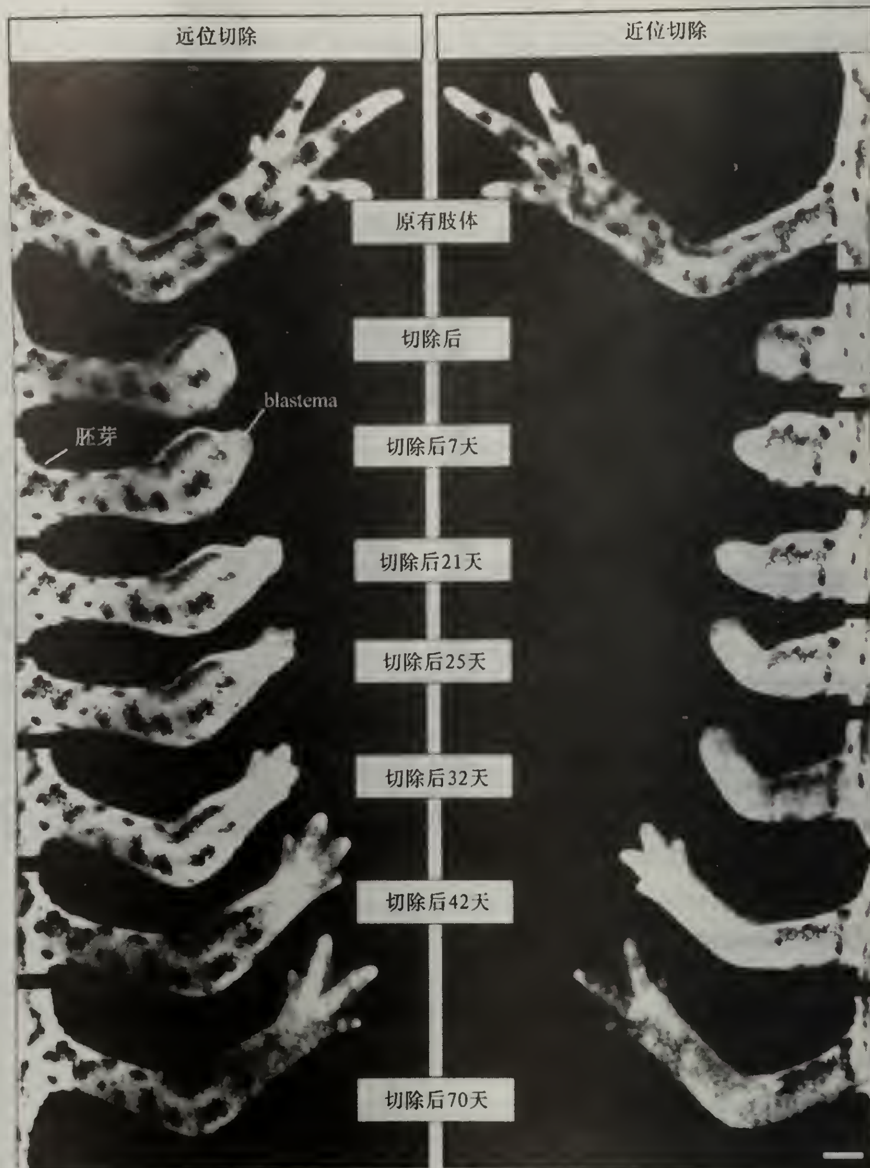


图 17 – 73　红斑水螈(*Notophthalmus viridescens*)前肢的再生

图的左侧示在前肢的桡、尺骨中部切断后的再生;图的右侧示在肱骨中部切断后的再生。标尺 = 1mm

重要，胚芽的生长和产生什么结构决定于截断面的位置。肢芽具有形态发生的自主性，肢体再生的结构总是为截面以远的结构，甚至不论从肢体截断的哪一个截端面长出的结构都一样(图 17 – 74)。

(二)视黄酸对肢体再生位置值的影响

视黄酸(retinoic acid)具有使肢体再生位置值沿近远轴近部化的作用。例如，肢体从桡、尺骨部位切断后，将其近部截面与视黄酸接触，那么再生出的结构不仅包括切掉的部分，而且还额外长出了完整的桡骨和尺骨(图 17 – 75)。此外，视黄酸还有使再

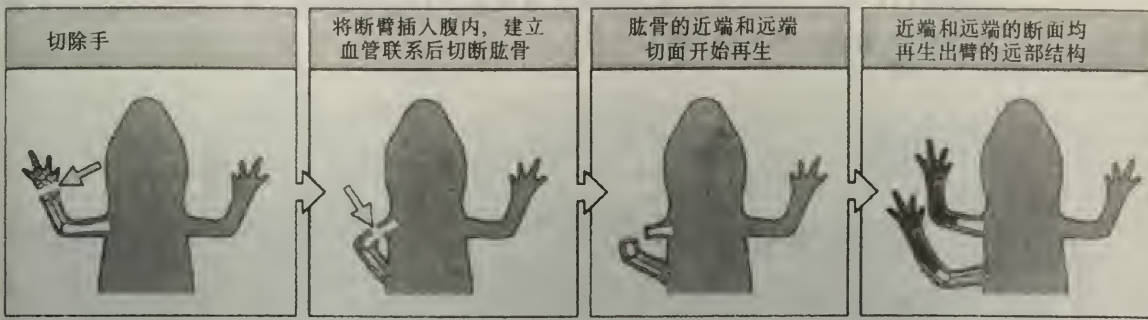


图 17－74　肢体再生总是向截面以远的方向进行

将切除远部的肢体插入腹部，一旦建立了血管联系，再将肢体从肱骨处截断，结果两个断面都长出了一样的切面位置以远的结构



图 17－75　视黄酸处理具有使位置值近部化的作用。标尺 = 1mm

生的位置值沿前轴后移的作用。例如，可使蛙（*Rana temporaria*）蝌蚪尾发生同源异型转化。如果切去蝌蚪尾，再用视黄酸处理近部，则在应长尾的部位长出了一对额外的附肢。这说明，视黄酸改变了尾再生胚芽的位置值，使位置值沿前后轴近部化，即再生的起点更移向前部。

视黄酸是由受伤的表皮产生，且在胚芽中形成近远浓度梯度，远端浓度高。视黄酸的效应具有浓度依赖性，浓度高时，可诱导手的截面长出完整的肢体。实验证明，视黄酸途径的激活可引起胚芽细胞向较近的位置迁移，使细胞的位置值发生近部化变化。视黄酸可经影响同源异型基因表达模式，从而改变位置值，引起同源异型突变。视黄酸的作用是通过与其各种受体相互作用实现的，其中只有 δ_1 受体与位置值的改变有关。用 δ_1 受体转染的细胞像用视黄酸处理一样，也可引起细胞位置值发生近部化变化。

五、去分化与转分化

再生过程中，细胞首先要去分化，变为类似未分化的胚胎细胞状态，然后才重新分化成各种细胞。在再生过程中转分化现象普遍存在，如在肢体再生中有肌细胞的转分化。此外，在晶状体（lens）再生中，虹膜色素细胞变为晶体细胞，也是细胞转分化的典型例子。虹膜是瞳孔周围盖在晶状体前表面上的一层含色素细胞的膜。虹膜细胞与晶状体细胞在结构和形态上有着很大的差异，虹膜色素上皮细胞含有黑素颗粒，细胞

不透明(17－76)。构成晶状体的细胞含有晶体蛋白(crystallin),高度透明。细胞外形呈长条形,故称晶状体纤维(图 17－77)。

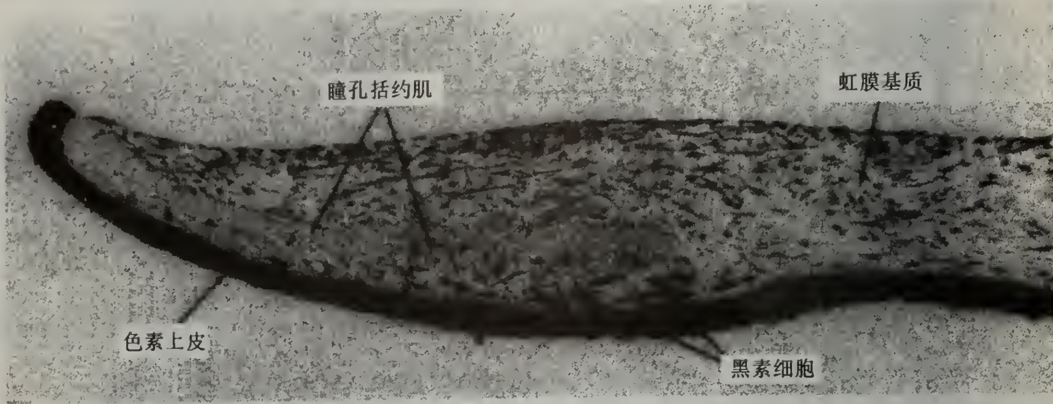


图 17－76　人虹膜横切面的显微图片

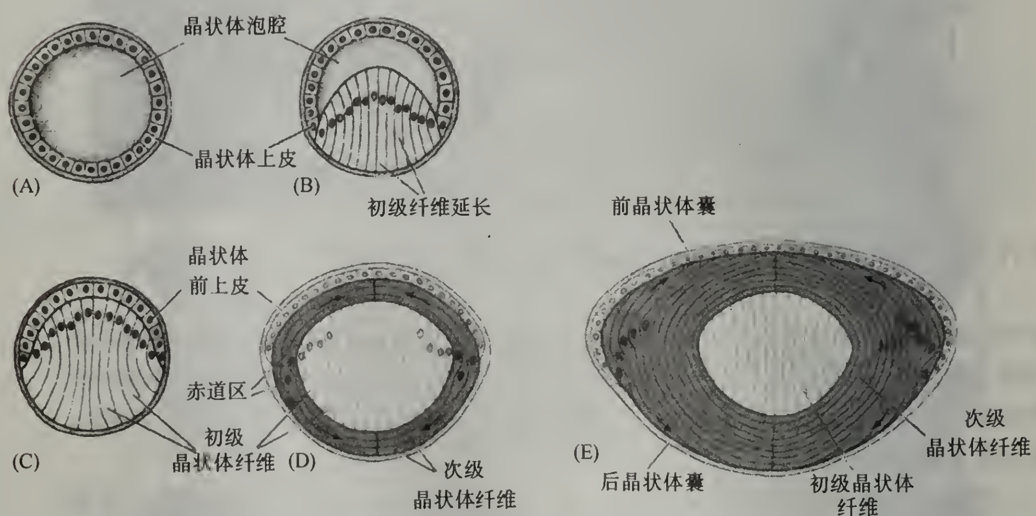


图 17－77　蝾螈晶状体细胞分化模式图

(A)上皮细胞内陷形成晶状体囊;(B)囊后方的细胞伸长,形成晶状体纤维;(C)晶状体中充满晶体蛋白合成细胞;(D)新的晶状体细胞来自于前方的晶状体上皮;(E)随着晶状体的生长,分化出新的纤维,细胞核退化

(自 Paton and Craig　1974)

某些脊椎动物的晶状体摘除后能够再生。蝾螈晶状体的再生能力很强,当摘除晶状体后,虹膜背缘上皮细胞可再生出新的晶状体。再生时,去分化是细胞再分化的前奏,故虹膜背缘上皮细胞首先要去分化。去分化时,细胞核中合成大量的核糖体,DNA复制,并进行一系列有丝分裂。色素细胞将色素颗粒排除,色素颗粒被巨噬细胞所吞噬。背缘虹膜细胞继续分裂,在晶状体区形成一团去分化组织,这些细胞开始合成晶体细胞分化产物——晶状体蛋白,最后这团细胞发育成成熟的晶状体(图 17－78)。但是如果将摘下的晶体再回植到原处,则会抑制晶状体的再生,而不再发生新晶体再生现象。这是由于成熟的晶状体细胞合成了两种蛋白质,释放到眼液中,抑制了虹膜细

胞去分化,因而不能发生晶状体再生。

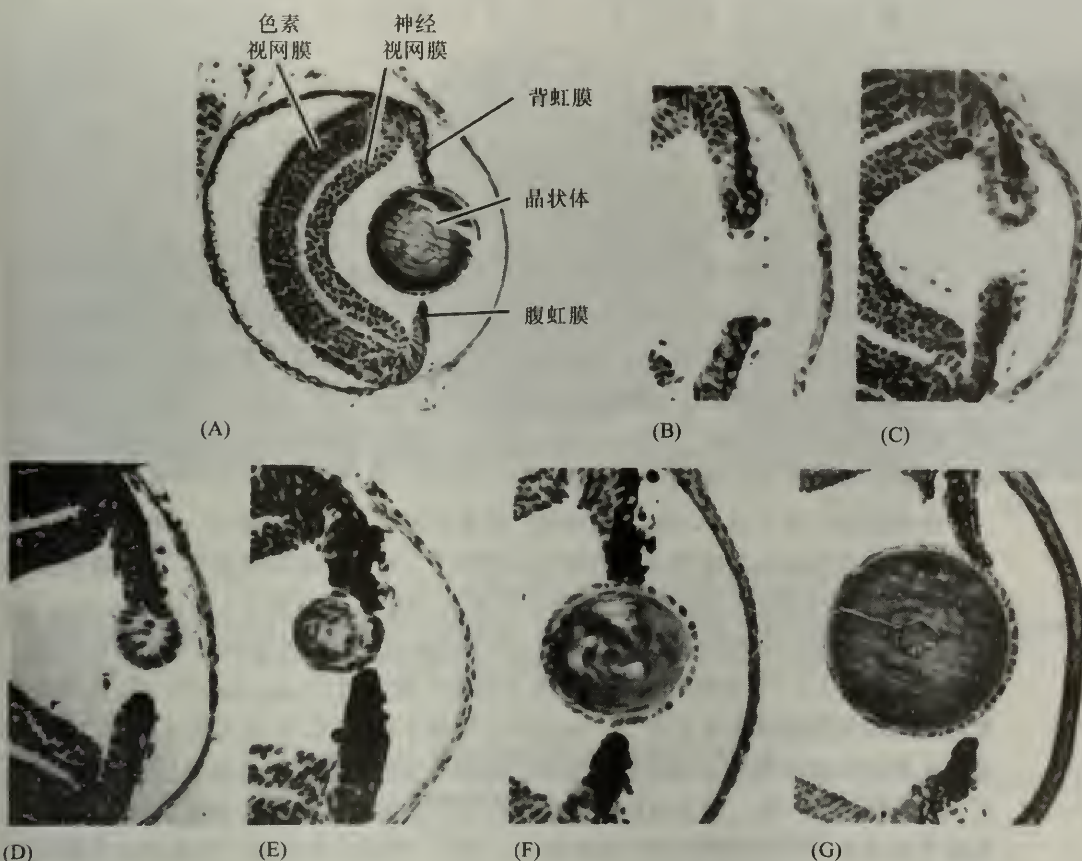


图 17-78　蝾螈虹膜再生晶体的基本过程(说明见正文)

六、哺乳动物的再生潜能

哺乳动物的再生能力比较差。截肢后一般不能再生。但是有的器官局部切除后,仍可再生。例如,鼠肝大部分被切除后,仍能再生恢复原状。利用新生的负鼠(*Didelphis*)实验表明,在截肢前,向肢体中埋入一片脑组织,则截肢后仍可再生。幼儿指尖(最后指节的甲根以远部分)如果被截去,只要不缝合皮肤,仍可再生,甚至能长出指纹和指甲。最近几年陆续有报道,神经细胞亦能在一定条件下发生有丝分裂。对哺乳动物再生潜能和再生机制的研究,无疑具有重要的实际意义。

七、植物的极化再生

植物的再生能力极强,甚至一个体细胞即可再生出一棵完整的植株,并不表现出极性。然而部分茎再生时,则表现出极性。从植株上截取一段茎进行培养,重又长出苗和根。再生的根总是由近根端长出;而苗则是从茎的近苗端长出。这种极化再生现象与维管分化和植物生长素(auxin)的极化运输有关。植物生长素来自苗端,向着根运输。当茎截断后,生长素便向着茎的近根端积累,从而诱导生成根。极性是由生长素的流向决定的。

第九节　程序性细胞死亡

一、基本概念

(一)定义

多细胞生物的个体发育过程是从受精卵开始，细胞是作为机体中具有高度时空秩序的成员而存在,它的一切活动都受到了整体的调节和控制。无论是胚胎还是成体中都存在着细胞分裂和细胞死亡两种变化。即便是在正常的生理环境中,体内也要有大批的健康细胞发生死亡。细胞死亡的数量是相当惊人的,例如一个健康人,总细胞数大约为 40×10^9 个细胞,而每一小时就要有几十亿个骨髓细胞和肠细胞死亡,这些细胞的死亡并不是由于受到什么毒害。

细胞的死亡是个体存活的正常现象。细胞中既存在着存活途径,也存在着死亡途径。体内健康细胞在特定的细胞外信号的诱导下,其死亡途径被激活,于是在有关基因的调控下发生死亡，细胞的这种死亡方式称为程序化细胞死亡（programmed cell death),该词是在 1965 年由 Lockshin, R. 和 Williams, C. 在对蚕发育研究中创用的。1972 年,Kerr, J. F. 等在研究组织变化时又创用了细胞凋亡(apoptosis)一词,是指细胞受到生理或病理刺激发生的死亡。apoptosis 来源于希腊词,是秋天树木落叶之意,用来表示细胞的这种死亡方式比较形象化；然而从生物学意义上来说，‘程序性细胞死亡’则要更贴切一些，因为细胞的这种死亡并不是因受体外因素的影响而发生枯萎,而是个体发育、存活所必需的正常秩序的一部分。现在,细胞凋亡和程序化细胞死亡是作为两个同义词在学术界同时并用。

需要说明的是,程序性细胞死亡在性质上完全不同于细胞坏死(necrosis)。后者是指细胞受到激烈刺激,如机械损伤、毒性物质的毒害,导致细胞的死亡。细胞坏死时,质膜和核膜发生破裂,细胞质溢出,影响到周围细胞,发生炎症反应。而程序性细胞死亡过程比较平稳,无炎症反应(图 17－79)(表 17－4)。

(二)细胞衰老与最高分裂次数

高等动物体细胞,根据其分化程度和增殖潜能,大体上可分为两类:

(1)干细胞(stem cells):处于相对未分化状态,一直保持着分裂能力的细胞,它通过分裂不断补充消耗的细胞。如造血干细胞、小肠隐窝干细胞。

(2)功能细胞:高度特化不再分裂的细胞,执行一定时间的功能之后即被清除,如成熟的红细胞、肠绒毛上皮细胞(图 17－80)。

动物体内各种功能细胞存活的时间有所不同,有长有短(表 17－5)。

体内的干细胞虽然保持着不断分裂的能力,但是随着个体的年龄增长,细胞的增殖能力不断下降。例如从人胚中取出的成纤维细胞进行培养时，可持续分裂 60～80 次;从一位 40 岁的成人中取出的成纤维细胞,则只能分裂 40 次;如果从一位 80 岁的老人体内取出的细胞，则分裂 30 次后即停止分裂。因此，人细胞的最高分裂次数为

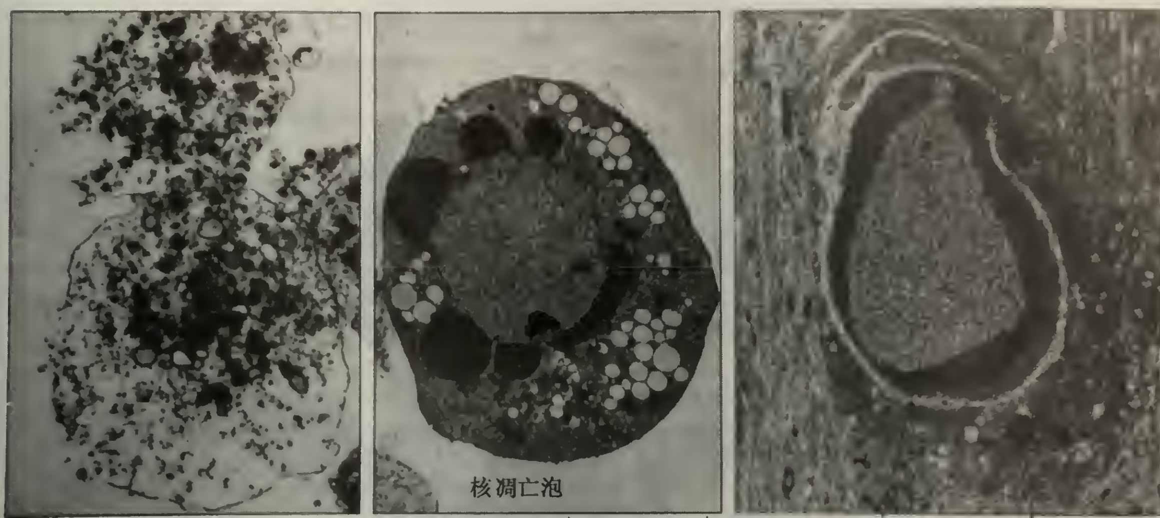


图 17－79　细胞坏死与程序性细胞死亡的电镜图比较

(A)图示细胞坏死;(B)为处于不同阶段的程序性细胞死亡。细胞坏死时,质膜破裂,细胞质溢出;程序性细胞死亡,细胞质凝缩,但质膜仍保持完整;(C)图示凋亡细胞被邻近的细胞吞噬(自 Iulia Burne 1998)

表 17－4　程序性细胞死亡与细胞坏死的区别

比较项目	程序性细胞死亡	细胞坏死
诱导因素	体内生理性信号	强烈的刺激因素
质膜	不破裂	发生破裂
细胞质	由质膜包围形成凋亡小体	溢出,细胞破裂成碎片
细胞器	无明显变化	肿胀、破坏
细胞核	固缩、断裂	核被膜破裂
染色质	沿核膜凝缩成半月形团块	松解成网状
DNA	有规律降解,呈现梯形电泳带	随机降解
基因活动	由基因调控	无基因调控
代谢反应	有蛋白酶参与的级联反应	无有秩序的代谢反应
对个体影响	个体正常存活需要	有破坏作用,引起炎症反应

60～80 次。如果将细胞冻存一段时间再复苏,细胞仍对其分裂次数保持着"记忆",当其分裂次数达到最高分裂次数时,即不再分裂。成纤维细胞的最高分裂次数与动物的寿命有一定的比例关系:龟,90～125 次;鸡,15～35 次;小鼠,14～28 次。植物细胞未发现有最高分裂次数。

细胞增殖能力逐渐减弱的现象称为细胞衰老(cell senescence)。细胞衰老与机体的衰老有一定的关系。Wilmut 利用六岁母羊乳腺细胞核,通过移核技术制作成功的克隆羊"Dolly",提前出现衰老现象。他们发现,"Dolly"的细胞中的端粒比同龄羊的短了 20%,端粒缩短是细胞衰老的重要特征。

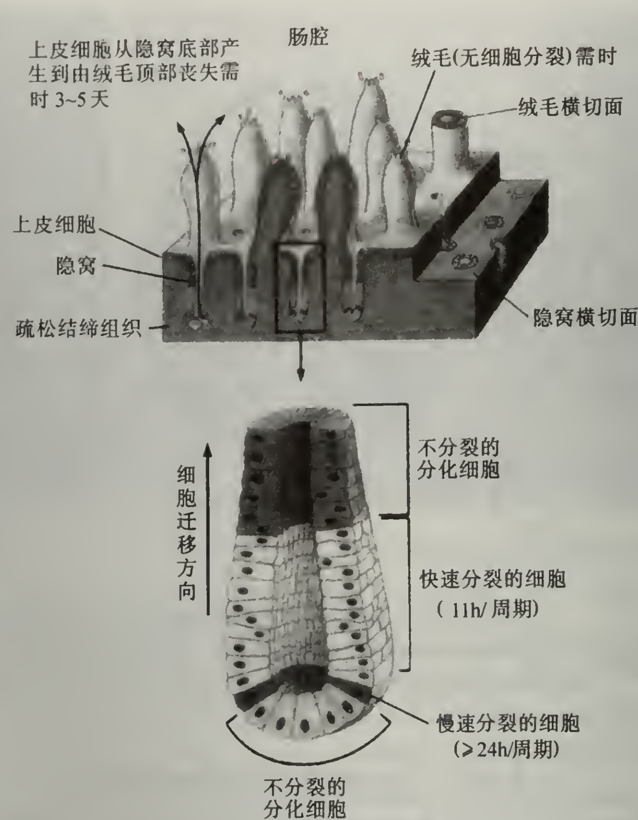


图 17－80　小鼠肠上皮细胞的增殖、迁移和脱落

上图中的指状突起是肠绒毛，顶端有不断脱落的凋亡细胞，这些细胞的寿命只有 5 天；下图示一个肠隐窝，近底部有 20 来个排成一圈的细胞，即干细胞，这是一些分裂缓慢的“不死”的细胞。干细胞分裂产生两个子细胞，其中一个保持在原位，仍为干细胞，另一个则向上迁移，分化成绒毛上皮细胞

表 17－5　成体小鼠特化细胞的存活时间

接近或等于动物寿命的细胞	存活时间超过 30 天，但低于动物寿命的细胞	存活时间低于 30 天者
神经元及相关细胞	呼吸道上皮细胞	表皮细胞
各种肌细胞	肾皮质细胞	角膜细胞
褐色脂肪细胞	肾上腺皮质细胞	口腔和胃肠上皮细胞
骨细胞	肝细胞	红、白细胞的前体细胞
肾髓部管细胞	胰腺细胞和胰岛细胞	
肾上腺髓部细胞	唾液腺细胞	
胃酶原细胞	胃壁细胞	
	皮肤结缔组织细胞	

二、程序性细胞死亡的普遍性

程序性细胞死亡不单是成体动物衰老细胞出现的现象，而且在个体发育的各个阶

段都有所发生,因此它是动物个体发育过程不可缺少的组成部分。在各类动物中均存在着程序性细胞死亡,下面对各类动物的程序性细胞死亡现象作一概括介绍。

(一)秀丽隐杆线虫

程序性细胞死亡现象,在秀丽隐杆线虫(*Caenorhobditis elegans*)中研究得最为详细。秀丽隐杆线虫是一种很小的线虫,体长只有 1mm,呈圆柱形。成虫分雌雄同体和雄性两种性别,雌雄同体相当于雌性(图 17-81)。雌雄同体者既可产生卵子,也可产生精子;而雄性个体只产生精子。雌雄同体者可行自体受精,也可与雄性交配异体受精。

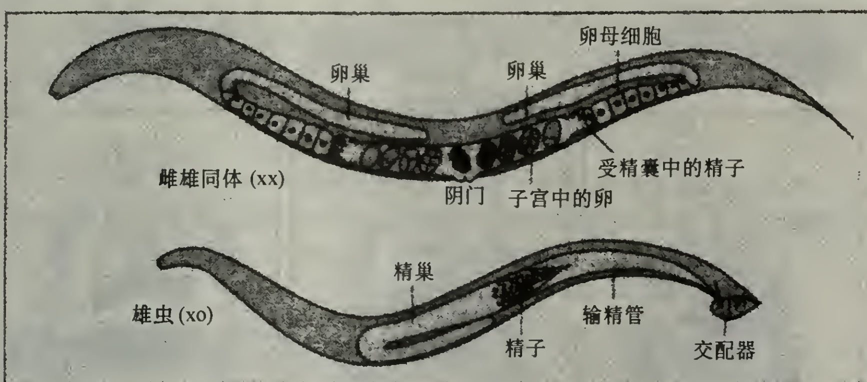


图 17-81　秀丽隐杆线虫的雌雄同体和雄性个体图解

雌雄同体虫体中含有双臂状生殖腺,既产生卵子,也产生精子;雄性虫体只产生精子

成虫由 959 个体细胞和约 1000~2000 个(性别差异)个性细胞构成。虫体最初含有 1030 个体细胞,后来在发育过程中,有 131 个细胞发生程序性细胞死亡,最后剩下了 959 个体细胞。虫体透明,染色体组为 6 对,约含 3000 个基因,是研究程序性细胞死亡的良好材料。

(二)两栖类

在两栖类中,程序性细胞凋亡最典型的例证是,无尾两栖类的蝌蚪在变态时,尾部的退化。在此过程中,尾部细胞的死亡并不是由于衰老或者外部损伤造成的。可参见“细胞分化”一章。

(三)鸟类

实际上,程序性细胞死亡这一概念首先是在鸟类发育的研究中提出来的。鸟类翅膀发育的模式形成即是伴随着程序性细胞死亡实现的。例如鸡胚在发育中,由于指(趾)间的细胞发生死亡,从而形成了具有一定形状的翅或爪。Saunders, J. W. (1966)发现,这些细胞的死亡总是发生在一定的发育阶段。如果在临近此发育阶段之前,把这些预定要死亡的细胞进行移植,不管移植到何部位,这些细胞到一定发育阶段时仍按时死亡。移到体外培养,营养条件充足,依然如此。因此,细胞好像是按照个体发育

的时间表生存或死亡。下面将介绍细胞生存和死亡的调节机制。

(四)哺乳类

程序性细胞死亡在哺乳类个体发育中亦广泛存在。小鼠早在囊胚晚期,内细胞团细胞保持着旺盛的分裂能力,形成了一柱形的细胞团,细胞团内部为上胚层(epiblasts)细胞,外包以脏内胚层。后来细胞柱中央的上胚层细胞发生程序性死亡,只剩下了与脏内胚层的基膜相接触的一层上胚层细胞存活,因而在柱内部形成了一个腔,此腔的形成对胚胎以后的发育至关重要(图 17 - 82)。上胚层细胞的死亡是由于脏

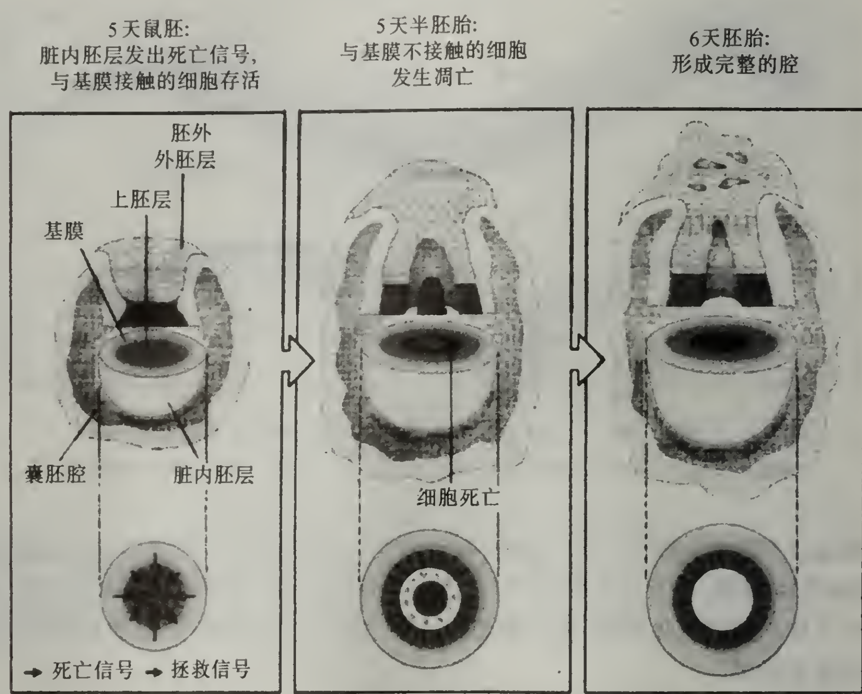


图 17 - 82　小鼠胚胎上胚层腔的形成示意图

说明见正文(自 Coucouvanis, E. *et al.* 1995)

内胚层向所有的上胚层细胞发出(死亡)信号,从而导致除了与基膜相接触的细胞外(基膜似乎具有防细胞凋亡的作用),均发生死亡。

哺乳类的肢体发育与鸟类的类似,人胚和鼠胚的肢体原基在初形成时,末端呈球拍状,后来在相当于指(趾)间部位的细胞发生死亡,才出现了彼此分开的指(趾)。

哺乳动物中还有一个很重要的程序性细胞死亡的例证,即是生殖管道的发生。人胚在第 5 ~ 6 周时为无性别时期,具有雌雄两套管道,一套为米勒氏管(Müllarian ducts),可发育为雌性生殖管道;另一套为中肾管的一部分,称为吴尔夫氏管(Wolffian ducts),可发育为雄性生殖管道。随着个体发育,出现了性别分化,每一性别个体都要淘汰另一性别的一套生殖管道,雌性淘汰吴尔夫氏管,而雄性则淘汰米勒氏管。这种淘汰过程即是通过程序性细胞凋亡实现的。

另外,在神经系统发生中,神经细胞在数量上多于靶细胞,通过程序性细胞死亡

调节神经细胞的数量与靶细胞数量相匹配，使与靶细胞建立接触关系的神经细胞存活下来。这是由于靶细胞分泌的存活因子的量有限，只有得到足量存活因子的神经细胞才活下来，而其余的神经细胞则死亡(图 17－83)。

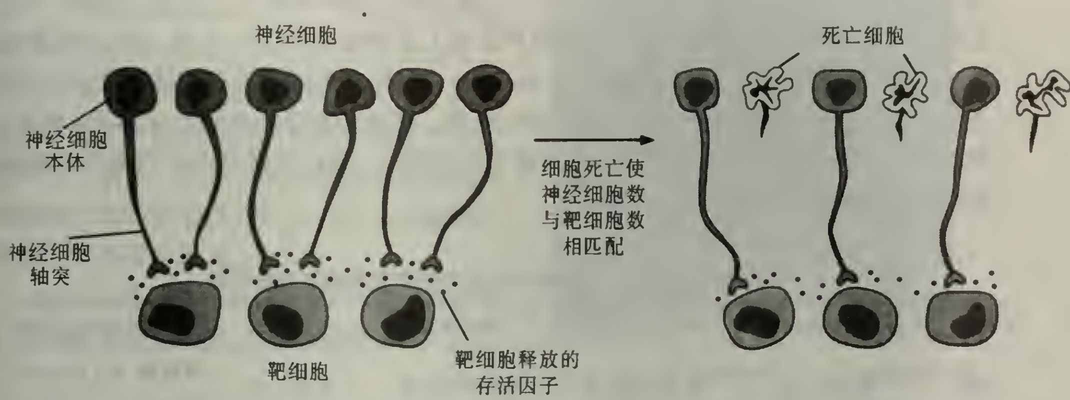


图 17－83　发育中的神经细胞经细胞凋亡调节与靶细胞在数量上匹配

靶细胞分泌有限数量的存活因子，支持与之接触的神经细胞存活；得不到足够数量存活因子的神经细胞，自杀程序受不到抑制，发生了程序性细胞死亡

三、程序性细胞死亡的意义

从上面介绍的程序性细胞死亡的情况来看，体内所有的生理性细胞死亡都要通过程序性细胞死亡途径而发生，这些细胞尚处在健康状态下即“自杀”，其意义究竟何在呢？概括起来说，程序性细胞死亡基本上有以下几种作用：

(1)个体发育模式形成的需要，消灭威胁机体生存的细胞。

(2)根据需要调节细胞数量。

(3)保持成体器官的正常体积。机体中各种器官，细胞的增生与死亡的数量总是处于平衡状态，这样才能避免组织和器官过分长大或萎缩。例如，成体大鼠的肝被切除一部分后，肝细胞分泌生长因子的数量就会增加，刺激肝细胞分裂，修补失去的部分。药物苯巴比妥(phenobabital)具有刺激肝细胞分裂的能力，如果给大鼠服用此种药物，可使肝长大。但是在停服药物之后，干细胞随即大量死亡，一周左右肝又恢复到原来的大小。这表明，肝是通过调节细胞分裂和死亡的速率，保持了固定的体积大小。

(4)更新衰老耗损的细胞。

四、程序性细胞死亡的基本过程

(一)程序性细胞死亡的引发和执行

在自然状态下，动物体内细胞既存在着分裂(增殖)、存活过程，也存在着死亡的过程，也就是说细胞内存在着存活和凋亡两条反应体系，这些过程要受到体内其他细胞发出的信号的调节。细胞存活时需要有其他细胞提供的存活因子(survival factors)，

如生长因子。如果去掉生长因子的供应，细胞的凋亡反应体系即被激活，细胞死亡。

另外，细胞发出的信号，有的可引起细胞发生程序性死亡，这种信号称为刺杀信号（killer signals）或“死亡配体”（death ligands）。细胞表面上有专一的“传感器（sensors）”，可同死亡配体专一结合，这种传感器即为细胞表面专一受体，特称为死亡受体（death receptors）。死亡受体的细胞质区近 C 末端处存在着一个由 ~80 个氨基酸组成的序列，此序列称为死亡域（death domain）。当死亡受体与死亡配体结合后，死亡受体被激活，死亡域将信号传至细胞内部，启动了细胞的程序性死亡反应体系。例如，蝌蚪变态时甲状腺素引起尾部退化，即属于这种情形。现已发现有多种因素可引起细胞发生程序性死亡（表 17 – 6）。

表 17 – 6　启动细胞程序性死亡的刺激因素和启动机制

刺激因素	电离辐射	必需的生长因子	糖皮质素	配体	毒性淋巴细胞的攻击
途径	要求有 p53	启动机制不明	启动机制不明	经死亡域	颗粒酶 B（granzyme B）启动

（二）细胞凋亡的主要特征

细胞死亡程序启动后，细胞内发生了一系列结构变化，如细胞质凝缩、细胞萎缩、细胞骨架解体、核纤层分解、核被膜破裂（图 17 – 84）。除了这些形态特征外，在进行 DNA 电泳分析时发现，核 DNA 分解成片段，出现梯形电泳图（图 17 – 85）。大量实验表明，核 DNA 断解成片段，是细胞凋亡的主要特征之一。

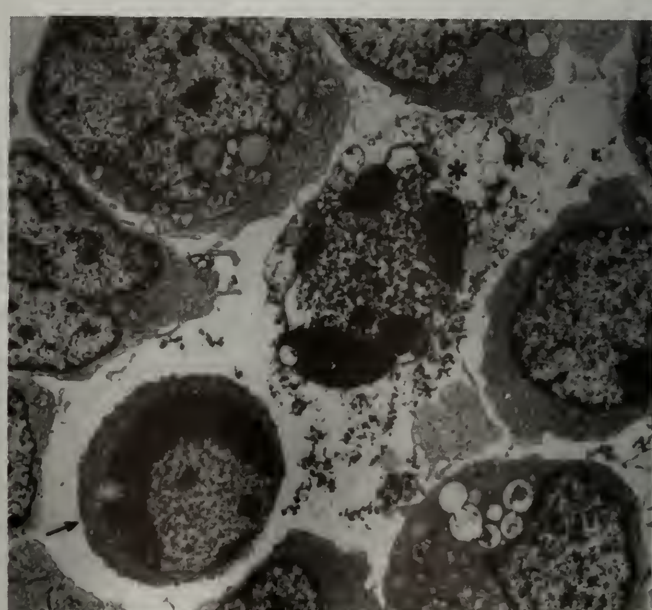


图 17 – 84　人淋巴肉瘤细胞系（BM13674）经 X 射线照射后出现的细胞凋亡现象
图中上方一个凋亡细胞（*），染色质分解凝缩，核裂解；下方为一个完整的凋亡小体（↑）

凋亡细胞通过出芽的方式分解成一些小泡，这些有膜包围的小泡称为凋亡小体(apoptotic bodies)。凋亡细胞的质膜性质发生改变，如表面糖基发生改变，可被巨噬细胞表面的凝集素(lectin)所识别；有时通常位于质膜内脂层的磷脂酰丝氨酸反转到了外脂层，巨噬细胞对暴露的磷脂酰丝氨酸具有识别能力。最后，凋亡小体被邻近的细胞或巨噬细胞吞噬而被清除(图 17－86)。细胞凋亡并不危及相邻的细胞。

由此可见，程序性细胞死亡过程可分为 4 个阶段：引发、执行、吞噬和清除。

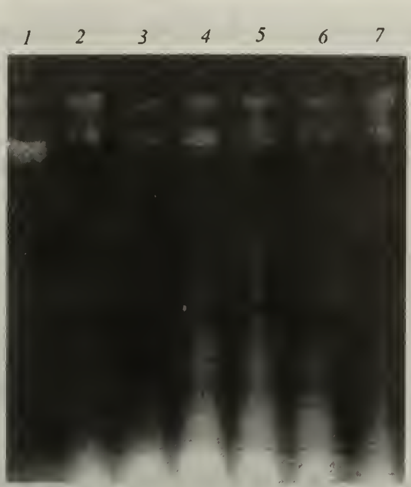


图 17－85　培养细胞(TF－1)去细胞因子发生凋亡后，DNA 片段化的电泳图

1、λDNA/Hind Ⅲ标准对照；2－7、去细胞因子后 0、8、12、24、48、80h 的电泳图(自刘红涛等　1999)

(三)程序性细胞死亡的信号传递系统

死亡信号激活了细胞表面的死亡受体

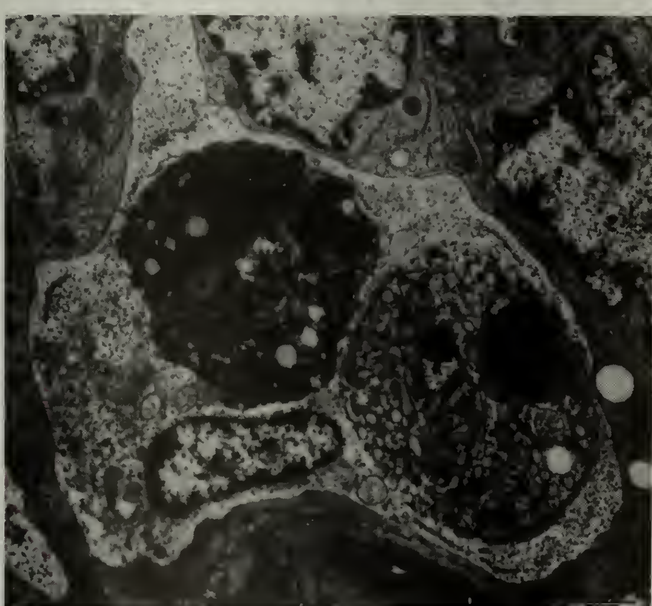


图 17－86　巨噬细胞溶酶体将凋亡小体部分消化的电镜图

阉割 2 天后的大鼠前列腺中的细胞凋亡。图示巨噬细胞溶酶体正在部分降解凋亡小体，核碎片中仍含有致密的染色质碎块(自 Kerr, J. F. R., Winterford, C. M. and Harmon, B. V.　1994)

之后，即激活了细胞内与程序性死亡有关的蛋白酶级联反应系统，从而将细胞外信号转变成了细胞内信号传递。细胞内信号传递涉及到一个蛋白酶家族，这些酶以酶原的形式存在，受到信号作用后，通过自我切割而被激活。激活的自杀性蛋白酶又可激活家族中的其他成员，引起蛋白质级联反应，导致反应得以放大(图 17－87)。最后，被激活的蛋白酶切割了细胞中的具有关键性作用的蛋白质，从而快速利落地

引起细胞死亡。例如，有一种蛋白酶可水解核纤层蛋白(nuclear lamins)，结果使核纤层不可逆地解体。

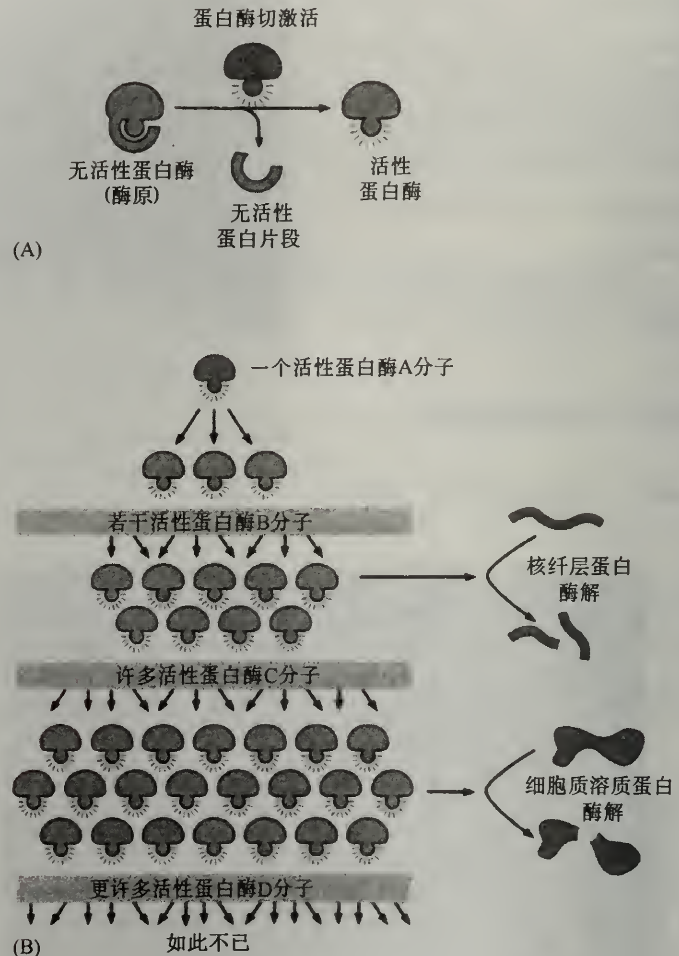


图 17－87　蛋白质水解级联反应介导程序性细胞死亡

(A)每一种自杀性蛋白质酶都以无活性的酶原(proenzyme)形式存在,它被同一家族中的其他酶切割激活;(B)每一个激活的酶分子又可切割激活许多其他酶原分子,于是少量酶分子激活,再经过级联反应链放大,激活大量的蛋白酶分子。激活的蛋白酶分子降解了细胞中的关键蛋白质,如核纤层蛋白,从而有控制地导致细胞死亡

一个细胞可同时受到两种作用相反的信号的刺激,有的促使细胞分裂,有的驱动细胞凋亡。存活信号对细胞的凋亡反应机制有钳制作用。哺乳动物中还进化出了另一种机制,机体可主动指导个体细胞自我破坏,这类指导性的细胞程序性死亡方式在免疫系统中特别重要。

死亡受体为跨膜整合蛋白,属于肿瘤坏死因子(tumor necrosis factors, TNF)受体基因产物超家族,其细胞外区含丰富的半胱氨酸,细胞质区也含有一个类似的区域,为死亡域。死亡域可使死亡受体启动细胞进入细胞凋亡途径。某些从死亡受体传递信号的分子,本身也含有死亡域。所谓死亡域,即是指具有传递细胞死亡信号的肽链结构序列。

质膜上的整联蛋白可能参与了程序性细胞死亡过程。整联蛋白与配体相互作用影响着细胞的粘着、迁移、生长和分化。整联蛋白可识别配体肽链中的 RGD 结构域(motif),含有 RGD 结构域的肽链可直接诱发程序性细胞死亡。实验发现,将含有 RGD 结构域的肽链导入细胞，可直接引起切冬酶 3(caspase 3) 酶原自我加工，产生酶活性。切冬酶 3 酶原是一种促程序性细胞死亡蛋白,被激活后启动细胞死亡程序。

(四)切冬酶的性质和作用

在蛋白质水解酶级联途径中起重要作用的酶系为切冬酶(caspases)。切冬酶均为半胱氨酸蛋白酶，其催化活性结构域中的半胱氨酸残基是保持酶活性的必需氨基酸。切冬酶具有专一切割蛋白质分子中的 Asp - X 肽键的活性，故本书采用此译名(caspase 代表是切割 Asp 残基后面的肽键的半胱氨酸蛋白酶)。切冬酶家族成员具有如下特征:①活性分子是由两个大亚基(17 ~ 22kDa)和两个小亚基(10 ~ 12kDa)组成的四聚体,这两类亚基都来源于同一转录本的翻译产物,翻译产物最初为酶原,无活性,后在 Asp-X 键处被切割成亚基,组装成了有活性的酶;②都有相同的催化部位,催化部位含有 QACXG 保守结构域,结构域中含有一个与活性有关的半胱氨酸残基;③具有自身活化和活化其他切冬酶的能力。

在翻译过程中合成了无活性的切冬酶原(procaspases),酶原含有 3 个区:NH_2 端区、大亚基(~ 20kDa)、小亚基(~ 10kDa)。在激活过程中经过蛋白水解加工,将各区切开,大、小亚基结合形成异二聚体,两个异二聚体组成四聚体。四聚体中含有两个催化活性部位。在每一个催化部位,大、小两个亚基紧密结合,使催化部位的氨基酸残基与底物结合,并进行催化。酶原的切割都发生在切冬酶的共有氨基酸序列部位,因此切冬酶既可通过自我催化激活，也可在级联反应中被具有相同专一性的酶催化激活。

在细胞凋亡过程中,切冬酶具有以下几方面的作用:

1. 使保护细胞不发生凋亡的蛋白质失活

这方面最明显的例子是 I^{CAD}/DFF45 的切割。I^{CAD}/DFF45 是可使 DNA 片段化的核酸酶的抑制剂。在非凋亡细胞中，切冬酶激活脱氧核糖核酸酶 (caspase-activated deribonuclease, CAD)与 I^{CAD} 结合成了无活性复合物。在细胞凋亡过程中,I^{CAD} 被切冬酶切割而失活,因而 CAD 可自由地起核酸酶的作用。

Bcl-2 蛋白是凋亡的负调节物。Bcl-2 蛋白被切割后,不仅失去了活性,而且所产生的片段可促进细胞凋亡。

2. 引起细胞结构解体

细胞凋亡时,核纤层蛋白受到切冬酶的切割,造成核纤层解体。核纤层是由核纤层蛋白分子头尾相接组成的中间丝所构成,是染色质附着的结构。核纤层的解体导致染色质凝缩。

细胞中有几种蛋白质与细胞骨架的调节有关,如凝溶蛋白(gelsolin)、点粘着激酶(focal adhesion kinase, FAK)、p21 激活激酶 2(p21-activated kinase 2, PAK2)。这些蛋白质被切割后，失去了调节作用。例如凝溶蛋白可将肌动蛋白丝切割成适于调节的状

态，然而凝溶蛋白被切冬酶切割后所产生的片段则不再具有这种活性，因此引起了细胞结构重新改组。

3. 影响核酸调节蛋白的功能

有些对核酸合成和加工过程有调节作用的蛋白质，如 DNA-PK_{cs}(DNA 修复)、U1-70K(mRNA 剪接)和复制因子 C(DNA 复制)。这些蛋白质被切冬酶切割后，即失活或失控。这些重要的自身调节和修复功能的丧失，便促进了细胞的解体。

由此可见，切冬酶对许多蛋白质的催化切割作用，在细胞中造成了一系列深刻变化：与相邻细胞脱离接触、细胞骨架重新装配、DNA 复制和修复过程被关闭、mRNA 无法剪接、DNA 受破坏、核结构紊乱。这些变化引起细胞发出了吞噬信号，细胞解体为凋亡小体。

五、线粒体在细胞凋亡中的关键作用

切冬酶是细胞内的凋亡效应物，属于半胱氨酸蛋白酶家族。虽然切冬酶抑制物可抑制一些促凋亡因子(proapoptotic factors)（如去除生长因子、放线菌素 D、紫外辐射、C-*Myc* 表达增强、糖皮质素等）所引起的细胞凋亡形态变化，但抑制切冬酶并不能保持细胞进行复制和形成克隆的能力。即使切冬酶失活，促凋亡因子最终也会导致细胞比较缓慢地发生非凋亡性死亡。反之，一些抗凋亡蛋白（antiapoptotic proteins），如 Bcl-2、Bcl-x_L 和癌基因产物 Abl，能使细胞在受到促凋亡因子作用时依然保持着活力和形成克隆的能力。某些促凋亡蛋白，如 Bax(一种哺乳动物细胞死亡蛋白，攻击线粒体膜)，即便在切冬酶失活的情况下，也能引起线粒体损伤和死亡。因此，这些现象说明，细胞中存在着一种不依赖于切冬酶而注定细胞死亡的机制，这种机制与线粒体有关。

(一)线粒体影响细胞死亡的变化

1. 电子传递链和能量代谢受到破坏

细胞死亡的早期特征是电子传递链受到破坏。例如，γ 辐射引起的胸腺细胞凋亡即是电子传递链受到了破坏，破坏的位置发生在细胞色素 b-c_1/细胞色素 c 步骤。又如N－脂酰鞘氨醇(一种与凋亡信号传递有关的第二信使)，也是在同一部位破坏电子传递。

2. 释放切冬酶激活蛋白

线粒体在细胞凋亡中具有重要作用，这表现在：Bcl-2 能抑制核固缩和 DNA 片段化依赖于线粒体的存在；而加入脱氧腺苷三磷酸诱发切冬酶激活也依赖于线粒体释放细胞色素 c(cytochrome c，cyt c)。cyt c 是切冬酶的激活物，因而在细胞凋亡过程中，线粒体释放 cyt c 是一个关键性步骤。cyt c 的释放可被线粒体上存在着的 Bcl-2 所抑制。细胞溶质的 cyt c 形成了脊椎动物凋亡体(apoptosome)的基本组成部分，凋亡体由 cyt c, Apaf-1 和切冬酶原 9 组成。切冬酶 9 的激活可进一步加工和激活其他切冬酶，从而相互协同杀死细胞。

目前的观点认为，cyt c 一旦释放即限定细胞必然要死亡，其作用机制有两种可能:① Apaf-1 介导的切冬酶激活引起细胞快速凋亡;②电子传递崩溃而导致细胞缓慢坏死。线粒体中 cyt c 排空会造成各种严重后果,如产生氧自由基、ATP 产量下降。

线粒体释放的凋亡介导物还有切冬酶原 3 和凋亡诱导因子（apoptosis-inducing factor, AIF)。AIF 是一种黄素蛋白,相对分子质量为 57 000,系另一种切冬酶。其活性可被广谱切冬酶抑制剂 Zvad－fmk 所抑制。AIF 具有引起染色质凝缩和 DNA 片段化的作用。

3. *产生活性氧类物质*

线粒体是细胞中产生超氧阴离子的主要来源。在电子传递给氧分子的过程中,约有 1% ~5% 的电子在中途丧失,其中大部分参加形成 O_2^-。凡是能降低电子传递链偶联反应效应的任何因素,都可使超氧化物产量增加。在各种因素引起细胞凋亡的过程中,超氧化物和脂类过氧化反应有所提高,改变了细胞的氧化还原反应。因此,活性氧类物质(reactive oxygen species, ROS)对细胞凋亡产生了影响。

(二)渗透转变孔的作用

线粒体内膜跨膜电位($\Delta\Psi$m)的崩溃是细胞凋亡的变化之一。这表明线粒体的大导电通道开放，这一通道称为线粒体的渗透转变孔（permeability transition pores, PT pores)。PT 孔的结构组成尚不完全了解,但是现已知道 PT 孔是由内膜和外膜成分共同组成,内膜蛋白有腺苷酸易位体(adenine nucleotide translocator, ANT),外膜蛋白有孔蛋白(porin)[电位依赖阴离子通道(voltage – dependent anion chnnel, VDAC)]。在内、外膜接触部位,二者协调活动,共同形成了一条通道,允许相对分子质量≤1. 5Da 的分子通过。因此,PT 孔的开放可使线粒体基质与膜间隙的离子发生平衡,解除了跨内膜的 H^+浓度梯度,导致呼吸链解偶联。另外更重要的一点是,由于基质处于高渗状态,引起基质空间扩张,将外膜胀破,膜间隙中的切冬酶激活蛋白被释放到细胞质溶质中。

PT 孔开放抑制剂,如环孢素(cyclosporins),可阻断细胞凋亡,说明 PT 孔的开放在凋亡过程中具有重要作用。ANT 激活物,如苍术(atractyloside)和 Bax 也可使 PT 孔开放,影响通透性,引起细胞凋亡。此外,切冬酶的激活可促使 PT 孔开放,造成凋亡过程反馈放大。

(三)Bcl-2 家族蛋白的作用

Bcl-2 家族蛋白存在于线粒体外膜、内质网膜和核被膜的细胞质面，以 -COOH 端的疏水性氨基酸序列与膜结合。Bcl-2 及其同源物对若干线粒体变化具有调节作用,如 Bcl-2 和 Bcl-x_L 对由呼吸链解偶联剂引起的基质隐藏 Ca^{2+}的释放有抑制作用，并能增强质子由线粒体的外排,提高线粒体 Ca^{2+}的缓冲能力。Bcl-2 对 PT 孔的开放有调节作用。

由此可见，在细胞凋亡过程中，线粒体起了很重要的作用，它是凋亡级联反应的关键环节。但是关于线粒体在细胞凋亡过程中的详细作用,尚有许多问题有待于进一步查清。在细胞进化过程中,线粒体是内共生体起源的观点,已基本得到了肯定。因此

线粒体在凋亡中的作用还有着重要的进化意义。线粒体与宿主细胞的内共生关系，为动物细胞的存活和死亡建立了一个统一的网络。

六、程序性细胞死亡的基因调控

前面我们已提到过，秀丽隐杆线虫在发育过程中有 131 个体细胞发生了程序性细胞死亡。这些细胞的死亡是由于细胞中的自杀程序被激活，而发生死亡。秀丽隐杆线虫是研究程序性细胞死亡的良好材料。

经研究发现，虫体中有 15 个基因与这一自杀程序有关。其中对 *ced-3*、*ced-4* 和 *ced-9* 三个基因的作用研究得最为清楚。这些基因的产物直接参与了程序性细胞死亡过程，CED-3 和 CED-4 有促使细胞凋亡的作用；而 CED-9 作用相反，有抑制细胞凋亡的作用。CED-3 是一种切冬酶，即半胱氨酸蛋白酶(cysteine protease)，通常它是以酶原的形式存在，在死亡信号诱导下，通过自我切割被激活，从而可对某些蛋白质在天冬氨酸部位进行切割。CED-4 是作用是结合到 CED-3 上，激活后者，而 CED-9 可与 CED-4 结合，使 CED-4 不能激活 CED-3。通常 CED-9 是与 CED-3 和 CED-4 结合成复合物存在，故 CED-3 无活性。程序性细胞死亡信号引起 CED-9 与 CED-3 和 CED-4 解离，CED-3 得以被激活，细胞进入凋亡途径。

脊椎动物进化出了一整套与秀丽隐杆线虫细胞死亡基因相同的基因家族，哺乳动物的切冬酶相当于 CED-3；Apaf-1 是 CED-4 的类似物；Bcl-2 基因家族产物与 CED-9 有关。Bcl-2 包括两个亚族，有的抑制细胞凋亡，有的促进凋亡。

最近有一些研究表明，植物生长发育过程中也存在着程序性细胞死亡现象，诸如：胚囊中助细胞的退化和反足细胞的死亡；花药发育中绒毡层细胞的死亡；雌配子发育中，几个大孢子的退化死亡；根系生长发育中表皮细胞的死亡；维管束分化过程中导管细胞的死亡等。现已发现，植物中有几个基因与细胞死亡有关，如 *dad-1*、*ACD2* 等。

总之，程序性细胞死亡是一种极其复杂的生物过程，在生物界中普遍存在，它与生物的生长发育紧密相关，是目前细胞生物学中的一个重要研究领域。但它的许多重要问题还有待于进一步查明。程序性细胞死亡与人类的许多疾病有关，如肿瘤、心血管病、神经疾病、免疫疾病以及艾滋病等等。因此，研究程序性细胞死亡不仅有理论意义，而且还有重要的实践意义。

七、细胞死亡的类型

动物大多数发育中的细胞死亡是通过半胱氨酸蛋白酶（切冬酶）家族级联反应途径发生的。但这不是唯一的途径，也有一些生理性细胞死亡是通过另外的途径，如哺乳动物的角质细胞和红细胞发生终末分化执行一段功能之后而死亡，前者脱落，后者被吞噬，此过程不发生切冬酶级联反应。根据现有的资料，细胞死亡可分为 7 种类型：

(1) 凋亡。如虫体发育中的程序性细胞死亡；哺乳动物无生长因子供应时的细胞死亡。

(2)生理性杀死。秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)雄性个体的连接细胞的被杀。

(3)衰老。如动物衰老、植物冬季死亡、团藻(*Volvox*)体细胞死亡。

(4)终末分化。哺乳动物的角质细胞和红细胞。

(5)植物抗微生物防御。植物的超敏反应。

(6)植物的发育细胞死亡。木质部的形成、蕨类植物(*Monstera*)叶的孔洞形成。

(7)毒性和非生理性死亡。如白喉毒素、甲氨喋呤、抗生素、叠氮化物等的毒性作用。

因此,细胞死亡现象错综复杂,体内细胞死亡不能一概称为程序性细胞死亡或细胞凋亡,在对细胞死亡现象进行研究时,尚需仔细认真判断,然后做出肯定的结论。

提　要

细胞是生物体的基本结构单位。细胞的生命特征不是孤立存在的,而是要通过与周围环境的相互作用表现出来。对单细胞生物来说,细胞与环境有着密切的联系;对多细胞生物来说,在体内细胞与细胞之间还建立了紧密的相互作用关系。细胞生物学不能只是孤立地研究细胞的结构与功能,细胞的生命活动是生物个体生命活动的组成部分。因此细胞生物学仅限于研究细胞本身的结构与功能活动是远远不够的,对细胞的生命活动的研究只有同生物个体的生存、发育和繁衍联系起来,才能深刻理解细胞的生命意义。

多细胞生物的生长发育是从受精卵开始,卵子的结构对个体生长发育全过程具有决定意义。关于基因调控个体发育的机制,对果蝇研究得最为清楚。

果蝇卵母细胞在成熟过程中,与周围营养细胞相互作用,确定了卵轴。营养细胞向卵泡中的卵母细胞提供大量的专一 mRNA 和蛋白质,其中有些定位于特定的部位。卵母细胞产生局部信号,诱导一端的滤泡细胞变成为后部滤泡细胞。后部滤泡细胞引起卵母细胞重新组织细胞骨架,将 *bicoid* mRNA 定位于前端,而其他 mRNA 则定位于卵母细胞的后端,从而确定了卵母细胞的前后轴。卵母细胞的背腹轴也是由卵母细胞向滤泡细胞发出局部信号引起的。卵母细胞向背部细胞发出局部信号,使其成为背部滤泡细胞,而在对侧的滤泡细胞向腹卵黄被膜沉积母体蛋白,这便确定了卵母细胞的腹侧。在卵母细胞两端的滤泡细胞确定了卵母细胞的末端。

卵子发生过程中,母体基因产物在卵中以特定的空间模式沉积,确定了主要的体轴,并为以后的发育建立了基本位置信息框架。受精后,母体基因产物和位置信息激活了合子基因活性的阶梯反应,规范了以后的发育模式。沿前后轴激活的第一组合子基因是分隔基因,这些基因的编码产物均为转录因子。分隔基因的表达模式使胚胎分成了若干区,躯体变成了分节结构,随后激活了对控基因。分隔基因蛋白确定了对控基因的表达位置,胚胎沿前后轴分成了 14 个副节。合子基因的表达也沿背腹轴确定了几个区,包括将来的中胚层和神经组织。体节的个性是由两个同源异型基因复合物来确定,复合物含有选择基因。同源异型基因在复合物中的排列顺序与在染色体上的排列顺序相符,也与它们的空间表达模式一致。

控制体节个性的同源异型基因组成了两群:①触角足复合物,调控头部和第一胸节中副节的个性;②双胸复合物,调节其余各副节的个性。这两个复合物总称为 HOM 复合物。体节的个性是由一定区域中的基因配合作用所决定。选择基因在发育过程中必须持续保持活性,才能维持体节所获得的表型。同源异型基因的空间表达模式主要由分隔基因活性来确定。触角足复合物和双胸复合物的基因突变可造成同源异型转

化，在这种情况下，一个体节或结构可转变为另一种相关的结构，例如一个触角变成了一条腿。两个复合物的选择基因在外胚层和体、脏中胚层中均表达，而在肠管内胚层中不表达。肠管内胚层的模式形成是由脏中胚层的诱导作用决定，脏中胚层发出细胞外诱导信号，传递位置信息。

所有的脊椎动物都具有基本相同的躯体模式，在早期发育过程中建立了前后轴和背腹轴。体轴的建立与母体决定子的定位分布、外部信号和细胞间的相互作用有关。躯体早期发育建立了两侧对称。这三种体轴一旦建立，即为三个胚层命运图的建立奠定了基础。早期阶段胚胎的发育是可调整的，要受细胞间相互作用的影响。非洲爪蟾中至少有 4 种信号与中胚层诱导和早期模式形成有关，其中 TGF－β 家族的作用最清楚。这些信号以特定的浓度激活中胚层专一基因，如 *Brachyury* 基因。信号的浓度梯度可规范中胚层的发育模式。

在原肠作用过程中，胚层的发育模式沿前后轴和背腹轴得到了规范。细胞沿前后轴的位置个性由 4 个 Hox 复合物的基因表达确定。*Hox* 复合物的作用与果蝇中的 HOM 复合物相当。与 HOM 复合物的基因一样，*Hox* 基因在染色体上的排列顺序以及沿胚胎前后轴的时空表达顺序都是一致的。*Hox* 基因的失活或过度表达都会导致局部畸形和体节的同源异型转化，体轴上的一个体节（segment）转化成了另一个体节的个性。这说明，*Hox* 基因在确定区域个性方面起着关键性的作用。在原肠作用的末期，躯体基本模式确立，诱导出神经系统。每一体节（somites）的专一区域分别产生软骨、肌肉和真皮。

再生是生物成体重新生出丢失部分的过程。各类生物的再生能力差别很大。哺乳动物的再生能力有限；但植物的再生能力很强，一个体细胞即可生出一棵完整的植株。两栖类肢体的再生反映了胚胎发育机制的重新激活。再生有两种类型：变形再生和新建再生。前者，位置值要重新规范，但无生长；后者，确定新的生长模式。两栖类肢体的再生属于新建再生，截桩（肢体切断后的剩余部分）细胞发生去分化，形成胚芽。胚芽细胞具有未分化胚胎细胞的分化潜能，可进行分裂和分化，再生出丢失的远部结构。截取的部分植物茎具有极性，近根端长根，近苗端生苗。植物茎的极化与植物生长素的运输方向有关。

动物体内细胞是在相互作用的情况下，进行增殖、存活和死亡。细胞增生需要有其他细胞分泌的生长因子的刺激，激活细胞内的信号传递途径，解除细胞周期的制动机制。但是，所有体细胞存在着一种机制不清的最大分裂次数。另外，细胞内尚存在着一种自杀程序，此程序一旦激活，细胞就要自杀身亡，这一程序称为程序性细胞死亡或细胞凋亡。程序性细胞死亡有细胞外死亡信号的诱发，激活了细胞内的自杀程序。程序性细胞死亡依赖于一个蛋白质水解酶家族，这些蛋白酶通过蛋白质水解级联反应自我激活或切割激活。其中切冬酶（caspases）家族发挥了重要作用。在细胞凋亡过程中，线粒体起着关键性的作用，线粒体释放出 AIF 和细胞色素 c，导致死亡程序的下游变化，引起核凋亡。细胞程序性死亡是动物体生长发育和存活所必需的反应体系，这一体系一旦遭受破坏，动物体的生存就要受到威胁。

复习思考题

1. 如何评价关于个体发生的先成论和渐成论？
2. 在个体发育中，细胞和基因活动各占有什么地位？是否基因决定了一切？

3. 何谓母体基因？它与合子基因的关系怎样？
4. 如果我们取得了一个物种的完整基因组，那么将来是否就可制作出这一物种的个体？
5. 为什么说卵的结构对个体发育的全过程具有决定意义？如果把小鼠合子核置换成人的细胞核后，合子是否可发育成人？
6. 卵轴和体轴的关系怎样？它们是怎样建立的？
7. HOM 基因复合物最突出的特点是什么？它是如何确定细胞在体轴中的位置值？
8. 在同源异型突变中，究竟是基因还是位置值起决定作用？是否会发生触角翅同源异型突变？
9. 应当如何理解形态发生素、位置信息、位置值这些基本概念？
10. 两栖类的肢体再生与胚胎肢体发生，在机制上有何异同？类视黄酸有何作用？
11. ABC 模型如何解释花的模式形成机制？
12. 怎样理解动物体内细胞的增生、存活和死亡的相互关系，对动物体的生存有何意义？
13. 程序性细胞死亡是怎样发生的？它都涉及到那些变化？

主要参考文献

陈吉龙，马海飞主编．，1994. 发育生物学进展．北京：高等教育出版社，130～145

华志明，陆睦传，沈明山．，1998. 植物生长发育中程序性细胞死亡．生物工程进展，18(3):32～36

刘良式等，1997. 植物分子遗传学．北京：科学出版社，1997. 264～446

刘国振，朱立煌，1998. 植物同源盒基因的克隆与功能研究．遗传，20:42～47

刘陶文，1999. 凋亡调控基因 BCL2 家族研究的新进展．生物化学与生物物理进展，26:216～219

刘红涛，王玉刚，张颖妹等，1999. TF-1 细胞凋亡相关基因的研究．生物化学与生物物理进展，26:38～43

萨其拉，刘孟珉，贺福初，1999. TNF 受体家族介导的细胞凋亡信号转导．生物化学与生物物理进展，26:327～330

童第周，1960. 文昌鱼卵子的预定器官形成物质分布区域的研究．实验生物学报，7:1～2

童　新，孙志贤，1998. Caspase 蛋白酶与细胞凋亡．生物化学与生物物理进展，25:418－421.

汪堃仁，薛绍白，柳惠图主编，1998. 细胞生物学(第二版). 北京：北京师范大学出版社，563～577

严绍颐(Shaoyi Yan), 1999. Contribution of late Professor T. C. Tung to the experimental embryology of Amphioxus. Develop. Growth Diff.,41: 503～522

郑国锠，1992. 细胞生物学(第二版). 北京：高等教育出版社，534～544

朱玉贤，李　毅，1997. 现代分子生物学．北京：高等教育出版社，357～360

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J. *et al.*, 1994. Molecular Biology of the Cell, 3rd., Garland Publishing, Inc., New York and London. 1037～1130

Alberts, B., Bray, D., Johnson, A. *et al.*, 1998. Essential Cell Biology, An Introduction to the Molecular Biology of the Cell. Garland Publishing, Inc., New York & London. 621～628

Ashkenazi, A. and Dixit, V. M., 1998. Death receptor: Signaling and modulation. Science, 281: 1035～1038

Bowman, J. L., Sakai, H., Jack, T. *et al.*, 1992. *SUPERMAN*, a regulator of floral homeotic genes in *Arabidopsis*. Development, 114: 599～615

Brockes, J. P., 1997. Amphibian limb regeneration: rebuilding a complex structure. Science, 276: 81～87

Buckley, C. D., Pilling, D., Henriques, N. V. *et al.*, 1999. RGD peptides induce apoptosis by direct casPase-3 activation. Nature, 397: 534～539

Castelli-Gair, J., Akam, M., 1995. How the Hox gene *Ultrabithorax* specifies two different segmenta: The significance of spatial and temporal regulation within metameres. Development, 121: 2973～2982

Chuang, P. T. and Mcmahon, A. P., 1999. Vertebrate Hedgehog signalling modulated by induction of a Hedgehog-protein. Nature, 397: 617～620

David, L. V. and Stanley, J. K., 1999. Cell death in development. Cell, 96: 245～254

Driever, W. And Nüsslein－Verhard, C., 1988, The bicoid protein determines position in the *Drosophila* Embryo in a concentration dependent manner. Cell, 54: 95～104

Fan, C. M., Porter, J. A., Chiang, C. *et al.*, 1995. Long Range Sclerotome Induction by Sonic hedgehog: Direct role of the amino-terminal cleavage product and modulation by the cyclic AMP signaling Pathway. Cell, 81: 457～465

Favier, B., Le Meur, M., Chambon, P. *et al.*, 1995. Axial skeleton homeosis and forelimb malformation in *Hoxd11* mutant mice. Proc. Nat. Acad. Sci., 92: 310 ~ 314

Gilbert, S. F., 1994. Development Biology, 4th ed., Sinauer Associates, Inc. Publisher, Sunderland, Massachusetts. 121 ~ 198; 493 ~ 645

Godsave, S., Dekker, E. J., Holling, T. *et al.*, 1994, Expression patterns of Hoxb in the *Xenopus* embryo suggest roles in antero-posterior specification of the hindbrain and in dorso-ventral pattern-ing of the mesoderm. Dev. Biol., 166: 465 ~ 476

Gonzalez-Reyes, A., Elliott, H., St Johnston, D., 1995. Polarization of both major body axes in *Drosophila* by gurken – torpedo signaling. Nature, 375: 654 ~ 658

Goodrich, J., Puansomlee, P., Martin, M. *et al.*, 1997. A polycomb-group gene regulates homeotic gene expression in *Arabidopsis*. Nature, 386: 44 ~ 51

Green, D. R., 1998. Apoptosis pathways: The road to ruin. Cell, 94: 695 – 698

Green, D. R. & Reed, J. C., 1998. Mitochondria and apoptosis. Science, 281: 1039 ~ 1312

Heemskerk, J., Diardo, S., 1994. *Drosophila* hedgehok acts as a morphogen in cellular patterning. Cell, 76: 449 ~ 460

Jeglian, B. G., De Robertis, E. M., 1992. Homeotic transformations in the mouse induced by overexpression of a human Hox 3. 3 transgene.

Krizek, B. A., Meyerowitz, E. M., 1996. The *Arabidopsis* homeotic genes *APETALA3* and *PISTILLATA* are sufficient to provide the B class organ identity function. Development, 122: 11 ~ 22

Lawrence, P. A., Morata, G., 1994. Homeobox genes: their function in *Drosophila* segmentation and Pattern formation. Cell, 78: 181 ~ 189

Lewin, B., 1997. Genes Ⅵ. Oxford University Press, Oxford New york Tokyo. pp. 1122 ~ 1126

Logan, M. and Tabin, C. J., 1999. Role of Pitrl Upstream of Tbx4 in Specification of Hindlimb IdenTity. Science, 283: 1736 ~ 1739

Meyerowitz, E. M., 1994. The genetics of flower development. Sci. Am. 271: 40 ~ 47

Ogino, H. And Yasud, K., 1998. Induction lens differenciation by activation of a bZIP transcription factor, L-Maf. Science, 280: 115 ~ 118

Pourquié, O., Fan, C. M., Coltey, M. *et al.*, 1996. Lateral and axial signals involved in avian somite Patterning: a role for BMP-4. Cell, 84: 461 ~ 471

Rivera – Pomar, R., Lu, X., Perrimon, N. *et al.*, 1995. Activation of posterior gap gene expression in the *Drosophila* blastoderm. Nature, 376: 253 ~ 256

Salvesen, G. S. & dixit, V. M., 1997. Caspases: intracellular signaling by proteolysis. Cell, 91: 443 ~ 446

Sasai, Y., and De Robertis, E. M. , 1997. Ectodermal patterning in vertebrate embryos. Dev. Biol., 182: 5 ~ 20.

St Johnston, D. And Nüss lein-Verhard, C., 1992. The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* Embryo. Cell, 68: 201 ~ 219

St Johnston, D., 1995. The intracellular localization of messenger RNAs. Cell, 81: 161 ~ 170

Struhl, G., Johnson, P., Lawrebce, P. A., 1992. Control of *Drosophila* body pattern by the hunchback morphogen gradient. Cell, 69: 237 ~ 249

Susin, S. A., Larenzo, H. K., Zamzami, N. *et al.*, 1999. Molecular charaterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. Nature, 397: 441 ~ 446

Tanaka, E. M., Gann, A. A. F., Gates, P. B. *et al.*, 1997. Newt myotubules re-enter the cell cycle by phosphorylation of the retinoblastoma protein. J. Cell Biol., 136: 155 ~ 165.

Vogel, G., 1999. New Findings Reveal How Legs Take Wing. Science, 283: 1615 ~ 1616

Wharton, K. A., Ray, R. P., Gelbart, W. M., 1993. An activity gradient of decapentaplegic is necessary for the specification of dorsal pattern elements in the *Drosophila* embryo. Development, 117: 807 ~ 822

Williams, B. A., Ordahl, C. P., 1994. *Pax-3* expression in segmental mesoderm marks early stages in myogenic cell specification. Development, 120: 785 ~ 796

Wolpert, L., Beddington, R., Brockes, J. *et al.*, 1998. Principles of Development. Current Biology Ltd. London & New York; Oxford University Press, Oxford, New York & Tokyo. 63 ~ 228; 304 ~ 327

第十八章

癌细胞和癌基因

癌症是威胁人类健康的最严重的疾病之一。据统计，目前，世界上因病死亡的总死亡率中，癌症居第二位，仅次于心血管病。但癌症与其他疾病在临床治疗上不一样，目前尚缺少治愈和缓解的有力治疗手段。因此，长期以来，癌症即是世界各国科学家力图制服的重点疾病。迄今虽然还没有找到治愈癌症的最佳方案，但是研究正在一步步深入，对癌症本质的认识越来越清楚，治愈癌症的前景充满希望。癌症是一种疾病，然而它是由一个细胞变化引起的，因此它也是细胞生物学领域中的重要研究对象，对癌症的解决必然要包含着细胞生物学家的心血贡献。癌是一种疾病，但在机制上癌细胞的产生与个体发育、细胞的生长、分化和凋亡有着一定的相关性。因此，对癌细胞的研究有助于对许多生命现象的理解。本章的内容主要是从基础研究方面，系统介绍对癌细胞的认识。

第一节　癌细胞的特性

一、癌的特征

上一章介绍了正常发育过程中，细胞总是处于增殖、存活、死亡有控的动态平衡之中。然而有时，在外因或内因的影响下，一个细胞的增殖活动失常，突破了正常的限制机制而异常快速增殖，形成了组织肿块，这种由异常增殖而形成的细胞群称为肿瘤(tumor)。

肿瘤有良性、恶性之分，仅快速增殖而不播散的称为良性肿瘤；而不仅异常快速增殖，而且细胞可发生扩散转移(metastasis)的，称为恶性肿瘤，特称为癌(cancer)或新生物(neoplasm)。“cancer”一词来源于拉丁字，原意是“蟹”，该词用来指癌十分形象化，癌扩散时，不仅形状像蟹一样伸出腿爪，而且“横行霸道”，危害机体。cancer 是一个泛义词，代表癌症。在癌症中，根据其发生来源，可将癌症分为几类：①癌(carcinogen)，发生于上皮组织，如皮肤癌，肠、肺上皮细胞癌，均为外胚层和内胚层来源；②肉瘤(sarcomas)，由结缔组织和肌肉产生的癌，为中胚层组织来源；③淋巴(肉)瘤，淋巴细胞癌变产生，亦为中胚层来源。此外，尚有由早期胚胎细胞转化产生的畸胎瘤(teratomas)，畸胎瘤有良性的，亦有恶性的。

由此可见，癌的主要特征有两点：①不受机体整体的制约，“为所欲为”地快速增殖；②除侵占正常细胞所占的空间外，还发生扩散和转移，形成新的病灶，原发部位称为原发癌，转移部位称为继发癌。癌与良性肿瘤的差别主要在于前者具有扩散转移性能，这也是癌细胞所具特性。

体外生长的正常细胞，受肿瘤病毒感染后，在形态和生理代谢诸方面都产生了癌细胞的特性，而且可不受控制地增殖下去，这种经转化变成了具有癌细胞属性的细胞称为转化细胞(transformed cell)。例如，小鼠胚胎成纤维细胞系 3T3，经 SV40 病毒处理

后，即转化成了 SV403T3 细胞系，变为无限生长的细胞。转化细胞与体内的癌细胞在属性上没有差别，因而转化细胞便成了研究癌细胞的重要实验材料。

二、癌细胞的几种主要特点

(一)形态

(1)细胞外形改变：微绒毛、丝足和片足缩回，表面圆泡增加，细胞外形变圆(图 18－1)。

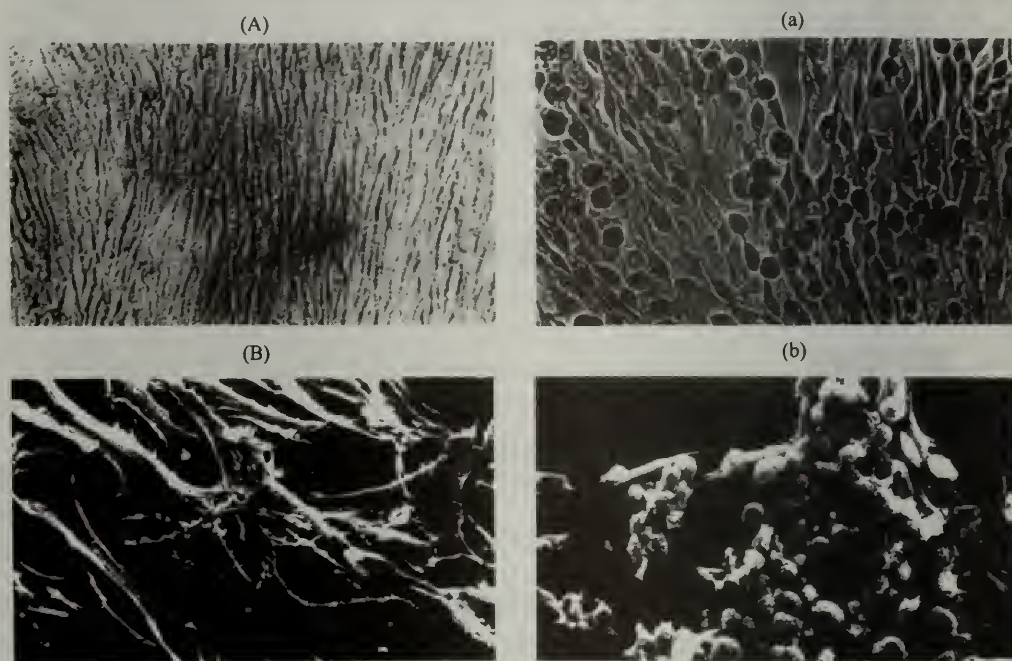


图 18－1　培养中的正常仓鼠胚胎细胞与转化细胞的外形变化(扫描电镜图)
上排图和下排图分别为光镜和扫描电镜下的形态。(A)和(B)示正常细胞，扁平单层生长；(a)和(b)示转化细胞，成团生长。(自 Hanafusa，H. and Bishop，J. M.　1970)

(2)细胞骨架结构紊乱：癌细胞中微管变短，排列紊乱，微丝亦发生结构异常。*Src* 癌基因的产物 $pp60^{src}$ 是一种蛋白质激酶，该酶可使张力纤维两端的黏着斑蛋白(vinculin)磷酸化，结果使张力纤维脱离质膜。肌动蛋白丝的量减少，引起膜流动性增强，细胞属性发生改变。前面所说的细胞外形发生改变，其诱因与细胞骨架结构紊乱有关。

(3)核异常：核的大小和形状发生改变，参差不齐；核型明显异常，发生基因扩增或缺失，染色体发生丢失、重复和易位的概率比正常细胞大为增加。例如癌细胞常出现染色体片段、双微小染色体(double minute chromosomes)和染色体匀染区，此即基因扩增的形态表现之一(图 18－2)。

(4)质膜结构发生变化：间隙连接减少或消失，细胞通讯受阻。


(A)


(B)

图 18－2　癌细胞的染色体变化

癌细胞中常出现基因扩增现象，引起核型发生变化。图中系用荧光染料染色，显示出 *myc* 原癌基因的扩增。(A)示由多副本 *myc* 基因组成的双微小染色体；(B)示多副本 *myc* 基因在染色体中组成匀染区（自 Sheer, D.　1994）

(二)生理变化

(1) 无限分裂: 在适宜条件下，癌细胞可不停地无限增殖，失去了最高分裂次数，成了不死的"永生"细胞。如 1951 年从一位名叫 Henrietta Lacks 的黑人妇女身上取出的宫颈癌细胞，建立了 HeLa 细胞系，迄今仍在世界许多实验室中传代使用，尚未发现衰老现象。

(2) 接触抑制现象丧失: 正常细胞生长到相互接触时，其运动和分裂活动就要停止下来。在体外培养条件下，正常细胞贴壁生长，汇合成单层时，即停止生长。癌细胞则不同，其分裂和增殖并不因相互接触而停止，在体外培养时，可堆摞成立体细胞群(图 18－3)。

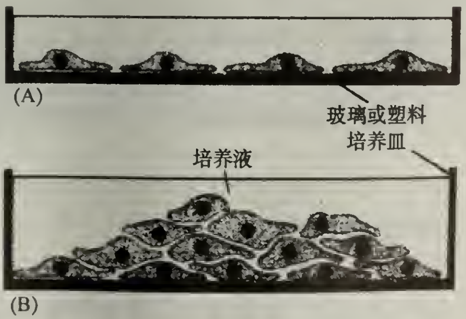


图 18－3　小鼠成纤维细胞在体外培养条件下转化前后的生长状态示意图

(A) 正常细胞分裂汇集成单层后即停止分裂和运动；(B)转化细胞失去了接触抑制，形成了成堆的细胞群

癌细胞接触抑制现象的丧失是由于细胞内部调节机制失常造成的，与细胞增殖速率无关。例如，肝部分切除后发生再生时，细胞的分裂速率要高于癌细胞，然而一旦肝体积恢复到原来大小时，细胞分裂随即停顿下来。但是肝癌细胞因增殖调节机制失灵，分裂不受节制。

(3) 细胞黏着性减弱：癌细胞与正常细胞相比，细胞与细胞间，细胞与基底物间的黏着性明显减弱，因此癌细胞在体内容易分散和转移。在正常细胞中，纤连蛋白(fibronectin)是一种细胞外黏合蛋白，它增强了细胞间和细胞与基底物间的黏合。癌细胞分泌纤连蛋白的能力显著减弱或缺失，钙黏蛋白(cadherin)的合成亦发生障碍，从而严重削弱了癌细胞之间和癌细胞与基底物间的黏合力，使癌细胞易于发生转移和浸润组织。

(4) 贴壁性下降：在体外培养中，正常细胞在培养瓶中贴壁生长，这与细胞分泌葡糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)黏性物质有关。GAG 是构成细胞外基质的主要成分之一，可形成水合凝胶(参见‘细胞外基质’一章)。癌细胞合成 GAG 减少，导致细胞贴壁性下降。

(5) 易于被凝集素凝集：与正常细胞相比，癌细胞更容易被凝集素(lectin)所凝集，引起癌细胞凝集所需要的凝集素浓度要比正常细胞低得多。例如经病毒转化的 3T3 细胞的凝集性要比同种正常细胞增强了 7 倍(表 18－1)。癌细胞凝集性增强的原因，是由于质膜结构发生深刻变化所致。癌细胞糖蛋白受体在质膜中的运动性增强，因而凝集素更容易与其受体结合簇集，形成更多的横桥。质膜糖蛋白受体运动性增强，是由于细胞骨架，特别是肌动蛋白丝受到破坏所致。

表 18－1　癌细胞与正常细胞凝集性的比较(自 Poste, G. 1972)

凝集素种类	细胞类型	凝集素浓度(μg/mL)				
		1000	500	250	125	0
ConA (伴刀豆球蛋白)	BHK	0	0	0	0	0
	3T3	0	0	0	0	0
	PV－BHK	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	0
	SV－3T3	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	0
		500	250	100	50	0
WGA (麦胚凝集素)	BHK	＋	0	0	0	0
	3T3	0	0	0	0	0
	PV－BHK	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	0
	SV－3Y3	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	＋＋＋＋	0

注：BHK. 仓鼠幼体肾细胞；3T3. 小鼠成纤维细胞

(三)生物化学变化

上面所列举的这些形态和生理变化大都与癌细胞的生物化学变化有关，前二者是后者的反映。明显的生化变化有如下几点。

(1)质膜的化学组成发生改变：膜中糖脂和糖蛋白含量减少，糖鞘脂和某些膜蛋白丧失。

(2)高尔基体成分变化：例如高尔基体中缺少了某些糖基转移酶，使糖蛋白合成

受阻。

(3) 纤连蛋白分泌量减少: 引起细胞与基底物的结合减弱,使细胞容易发生转移。

(4) 产生新的膜抗原: 癌细胞丢失了质膜上的主要组织相容性抗原(major histocompatability antigen, MHA),而出现了一些相关性膜抗原。这些新的膜抗原,是由细胞正常膜抗原修饰而成。但是迄今尚未找到癌细胞专一的膜抗原。

(5) 对生长因子的需求量降低: 正常细胞进行体外培养时,一般需要在含有 10% 以上的血清的培养液中才能生长,这是由于血清中含有一些细胞生长所必需的生长因子,如表皮生长因子(EGF)、血小板生长因子(PDGF)和胰岛素等。可是转化细胞却能在血清浓度很低的培养液中生长,对生长因子的需求量大大降低。

(6) 分泌多种蛋白质水解酶: 癌细胞由于能分泌一些蛋白酶,可水解细胞外基质和基膜,获得了可穿过组织和基膜进入血循环和淋巴循环的能力,发生转移。

此外,癌细胞还有许多其他性能,在此不一一例举(图 18-4)。

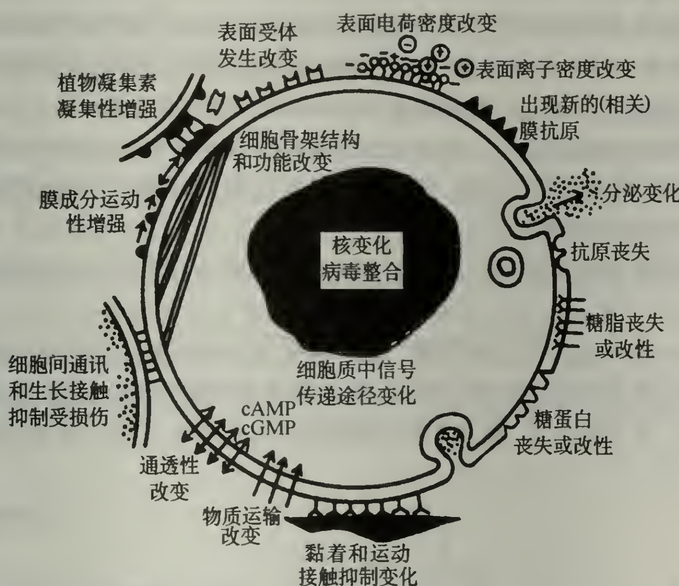


图 18-4 癌细胞所表现出的一些属性图解
(自 Nicolson, G. I. 1976)

第二节 癌的发生与致癌剂

一、致癌剂的性质

癌是由一个正常细胞突变而来,能引起细胞癌变的物质称为致癌剂(carcinogen)。致癌剂的种类极其繁多,致癌剂也是诱变剂,根据致癌剂本身的性质大体上可分为 3 类:

(一)物理致癌剂

主要为辐射致癌。最早发现的物理致癌剂是放射性物质发出的电离辐射,后来更发现像 X 射线、紫外线均可致癌。卓越的物理学家，放射性元素的发现者贝克勒尔(Begueral, A. H. 1852 ~ 1908)和居里夫人(Curie, M. 1867 ~ 1934)均因长期接触放射性物质而受到辐射损伤,最后死于放射病,居里夫人即是死于放射性诱发的白血病,为科学事业而捐躯。1903 年,他们因发现放射性元素的伟大贡献而获得诺贝尔奖。40 年后(1945)，美国在日本的广岛和长崎两地分别投下了一颗原子弹，在幸存者中出现了大批白血病患者,也是因接受超量辐射所致。

(二)化学致癌剂

迄今已知的具有致癌作用的化学物质达数千种之多，其中有无机物，也有有机物。无机物中有砷、石棉、铬化合物、镍化合物、镉化合物等。有机致癌剂更是种类繁多,有苯、联苯胺、杂环烃、煤焦油、黄曲霉素(aflatoxin)、亚硝胺、烟碱(尼古丁)(nicotine)。其中特别值得提及的是尼古丁，这种物质在烟草中含量较多，据统计吸烟者与不吸烟者相比，肺癌的发病率高了 11 倍，而且吸烟还可引起心血管病，因此把烟草说成是一种慢性毒品,并不危言耸听。

化学致癌剂的致癌作用有一定的时间性和剂量效应,因此今后还会陆续发现更多的致癌剂。

有些致癌剂具有直接的致癌作用，而有些化学致癌剂进入体内后，要经过激活才能与 DNA 反应,发生致突变作用。例如,黄曲霉素 B1 是由黄曲霉菌(*Aspergillus flavus oryzae*)产生的，进入体内后，被 P－450 细胞色素氧化酶氧化成了直接的致癌剂，引起肝癌(图 18－5)。

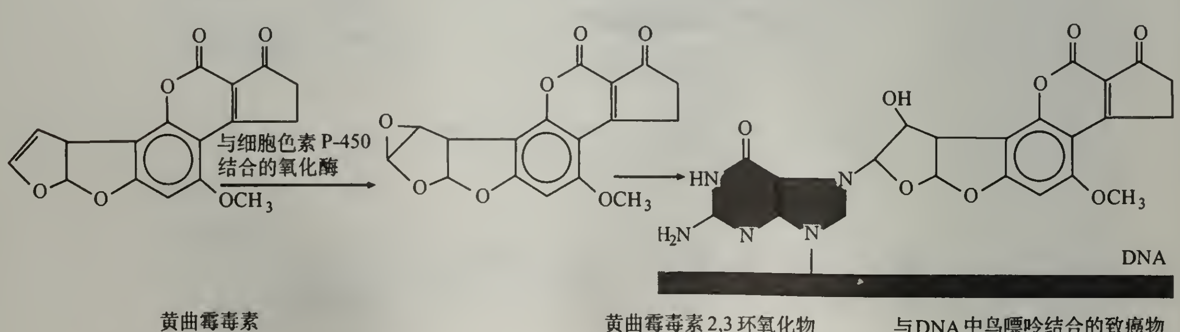


图 18－5　化学致癌剂被代谢激活之一例

黄曲霉素被 P－450 细胞色素氧化酶氧化激活，与 DNA 中的鸟苷酸结合，发生致突变作用

(三)病毒致癌剂

能引起细胞癌变的病毒称为肿瘤病毒 (tumor virus)，又称致癌病毒 (oncogenic virus)。现已发现有许多种病毒可引起动物或植物发生肿瘤。肿瘤病毒中有 DNA 病毒，也有 RNA 病毒。

虽然人们陆续发现以上这三大类因子都有致癌作用，可是直到20世纪50年代，大家对致癌剂的作用机制尚缺乏了解，特别是对这三类致癌剂的共同作用基础更是一无所知。后来还是从肿瘤病毒致癌的研究中找到了阐明细胞癌变机制的突破口。

二、肿瘤病毒的发现

早在20世纪初，Rous, F. P. (Francis Peyton Rous 1879～1970)在研究鸡的白血病时发现，患病家禽的细胞提取物可引起健康家禽患白血病。至1911年，Rous进一步证明，引起鸟类结缔组织生瘤的病原体是病毒，因而提出了病毒致瘤的观点。后来，学术界把Rous发现的这种病毒命名为Rous肉瘤病毒(Rous sarcoma virus或avian sarcoma virus)。可是当时由于在哺乳动物中还未发现肿瘤病毒也像一般病毒传染病那样传染癌症。因此，学术界认为Rous所获得的实验结果只不过是一个特例，并不具普遍意义，于是他的“病毒致瘤”的观点没有得到学术界的公认。直到20世纪50年代，情况发生了变化，学者们陆续发现了能够引起哺乳动物生癌的病毒，如1951年发现了引起鼠类发生白血病的病毒；几年后又发现了能引起哺乳动物患多种肿瘤的多瘤病毒(polyoma virus)；60年代初又发现了10几种肿瘤病毒。此外，对病毒侵染细胞的机制也逐步有了更加深入的了解，证明了病毒进入细胞后，其遗传物质可整合到细胞基因组中，成为新的遗传因子，并可有条不紊地诱导正常细胞转变成癌细胞。至此，被搁置了长达半个多世纪的Rous的“病毒致瘤”说这一创见终于得到了学术界的公认。1966年，Rous因此项首创性研究而获得诺贝尔奖，是年他已达87岁高龄。动物中病毒致癌机制的肯定，引导学者们为攻克人类癌症而孜孜以求地去追查人类的致癌病毒，结果没有辜负学者们的心血。

实验表明，肿瘤病毒可按所含的遗传物质的性质而分为两类，即DNA肿瘤病毒和RNA肿瘤病毒。

(一)DNA肿瘤病毒

大多数肿瘤病毒的基因组都很小，如乳多孔病毒(papova virus)(分乳头状瘤病毒和多瘤病毒两个亚族，SV40即是一种多瘤病毒)。它含有的双链DNA环仅由为几种蛋白质编码的基因所组成，但却具有很强的致瘤作用。其中研究得最清楚的是多瘤病毒和猿猴空泡病毒(simian vacuolating virus 40, SV40)。SV40病毒粒子呈20面体对称型结构，直径约25nm，DNA分子由5 224个碱基对组成。其DNA分子能与组蛋白结合形成核小体结构，所构成的染色体称为微小染色体(minichromosome)。SV40的基因组中含有为几种蛋白质编码的基因。病毒感染细胞的早期，先转录出早期mRNA，翻译成了T(tumor)抗原。随后激发宿主细胞和病毒DNA复制。在病毒DNA开始复制后不久，即合成了晚期mRNA，晚期mRNA翻译出了3种衣壳蛋白(VP1、VP2和VP3)(图18－6)。T抗原具有蛋白质激酶活性，肽链中含有核输入信号，合成后迅即向核内集中。有些T抗原位于质膜上，引起细胞转化。

腺病毒(adenovirus)是另一类得到广泛研究的DNA病毒，它含有线性双链DNA分子，有些腺病毒为肿瘤病毒。腺病毒DNA分子较长，为多瘤病毒和SV40的7倍，但基因组中与致癌有关的只有一小部分DNA序列，即E1A基因。

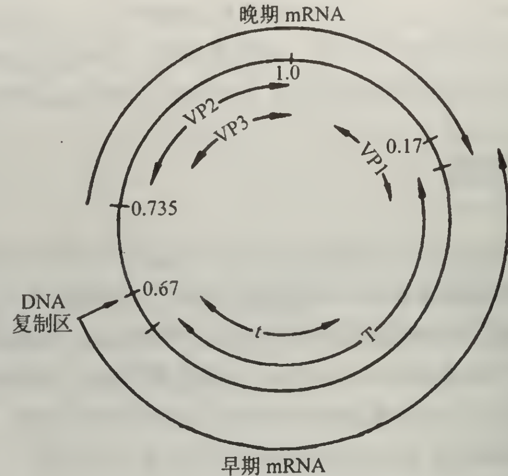


图 18－6　SV40 的 5 个基因定位图

图中表明了早期和晚期 mRNA 转录和 DNA 复制起始点

(二)RNA 肿瘤病毒

RNA 肿瘤病毒通常亦称为反转录病毒（retrovirus)。病毒粒子最外表为一脂双层被膜（envelope)，被膜实际上是病毒粒子由宿主细胞表面出芽分离时包绕上的细胞质膜，含有由病毒基因编码的糖蛋白。被膜里面为一层衣壳(capsid)。病毒芯子含有一条单链 RNA 和一种特殊的 DNA 聚合酶，该酶可以 RNA 为模板合成 DNA，故特称为反转录酶(reverse transcriptase)。反转录酶同病毒 RNA 结合后，以 RNA 基因组为模板，以 tRNA 为引物，催化合成一条互补的单链 DNA。随后，tRNA 和 RNA 模板链被消化，又以反转录出的 DNA 单链为模板，合成另一条互补链，两条 DNA 单链互补结合，形成了 DNA 双螺旋，并被整合到宿主核基因组中。整合到宿主 DNA 中的 DNA 病毒形式称为前病毒(provirus)(图 18－7)。病毒基因组随细胞基因组一起复制。大多数反转录病毒含有 4 个基因：①为衣壳蛋白编码的 *gag* 基因；②为被膜中形成棘刺(spikes)(病毒被膜表面伸出的糖蛋白延伸物，顶端带有与细胞专一受体相结合的结合区）的蛋白质编码的 *env* 基因；③为反转录酶编码的 *pol* 基因；④癌基因 *onc*(见图 14－19)。反转录病毒基因组末端由重复序列组成，有助于将反转录病毒 DNA 整合到宿主细胞基因组

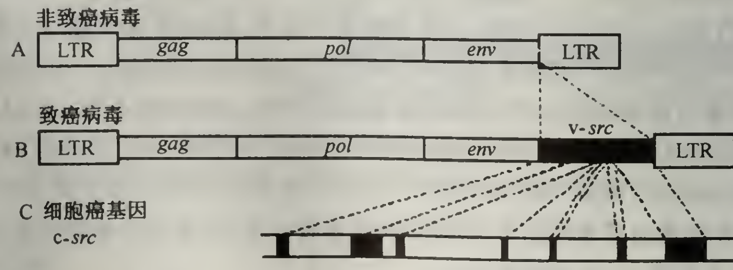


图 18－7　RSV 病毒的基本结构和 v－*src* 癌基因

A. RSV 病毒的基因结构，*gag*，*pol* 和 *env*3 个基因分别为族群专一抗原、反转录酶(聚合酶)和被膜糖蛋白编码。基因两端带有 LTR 序列，此序列与向宿主基因组整合有关；B. 插入 v－*src* 基因的 RSV 病毒，此基因的产物可引起鸟类发生肉瘤；C. *c*－*src* 基因的特点是含有多个内含子，此基因的 mRNA 失去内含子后被病毒掠取，故 v－*src* 基因无内含子

中。例如,Rous 肉瘤病毒即是一种 RNA 病毒,可引起鸟类生癌。此病毒在生活周期中只需要 3 个基因(*gag*, *pol* 和 *env*)和末端重复序列(long terminal repeats, LTR)。而致癌的 RSV 病毒尚带有一个额外的癌基因,即 v - *src* 基因。*src* 为质膜的一种酪氨酸激酶编码。v - *src* 与 c - *src* 同源,只是前者无内含子。因而 RSV 病毒的致癌性来自于 v - *src* 癌基因(图 18 - 7)。

Rous 肉瘤病毒即是一种 RNA 病毒, 其基因组中含有一个癌基因 *src*(sarcoma 的缩写诱发肉瘤的基因之意),*src* 的蛋白质产物称为 pp60^{src} 蛋白。这种蛋白质具有蛋白质激酶活性,可使许多蛋白质磷酸化,通过级联反应,诱发细胞癌变。pp60^{src} 蛋白是一种膜蛋白,结合在质膜的内表面,它可催化磷酸基离子(PO_3^{2-})转移到一些蛋白质的酪氨酸残基上,使磷酸化酪氨酸在细胞中的含量提高了 10 倍(图 18 - 9)。磷酸化酪氨酸

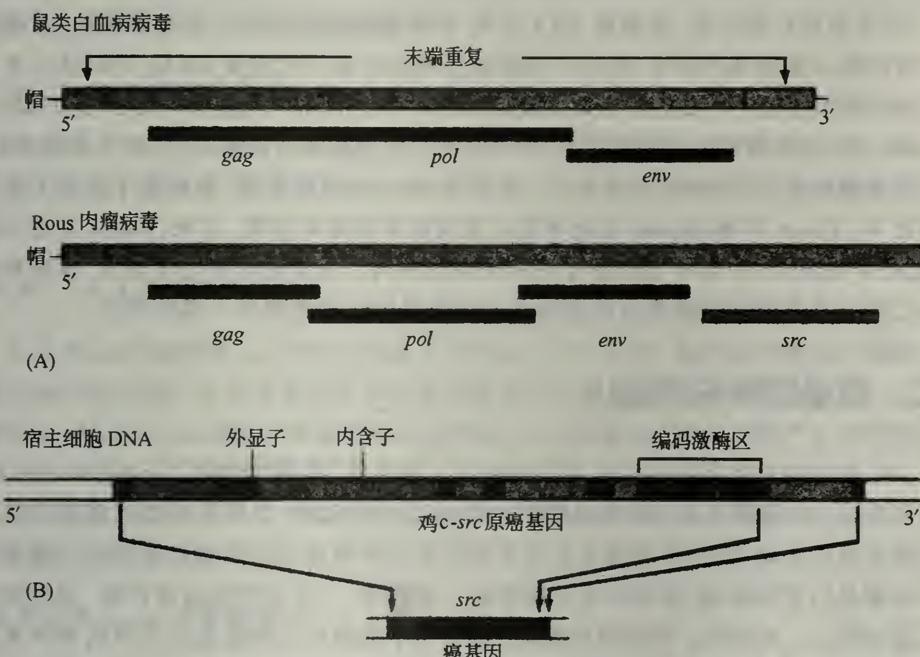


图 18 - 8 RSV 病毒基因组图解

(A) 鼠类白血病病毒与 RSV 反转录病毒基因组结构比较;(B) v - *src* 与细胞 *src* 原癌基因的来源关系。细胞 *src* 中的内含子,在 v - *src* 中已被切除。此外,v - *src* 中含有导致蛋白质氨基酸序列发生改变的突变,使蛋白质变成了过分活跃并失控的酪氨酸专一的蛋白质激酶

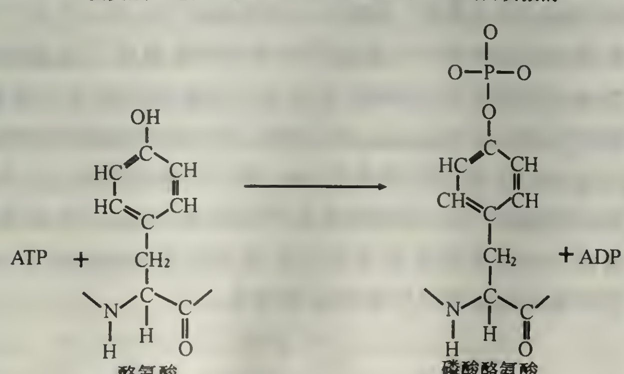


图 18 - 9 蛋白质激酶催化酪氨酸磷酸化的分子变化

有两种作用，一是使细胞的正常调节机制失调，细胞增殖失去控制，二是使细胞的黏着性丧失，易于发生播散和转移。

第三节　癌基因学说的创立

一、反转录酶的发现

20 世纪末，当确定 Rous 肉瘤病毒(RSV)是一种 RNA 病毒时，恰是学术界认为“中心法则”铁定不移的年代。因此，就引起学者们十分关注，RNA 病毒是如何繁殖的？1964 年 Temin, H. M. 首先设想，RSV 的活动周期中存在着他称之为前病毒 (provirus) 的 DNA 中间产物阶段，前病毒 DNA 含有 RNA 病毒基因组的全部遗传信息。前病毒可整合到宿主细胞基因组中，然后以前病毒为模板合成子代病毒 RNA。当时这只是一种大胆的逻辑推理，尚无充分的实验依据。1970 年，Temin 实验室和 Baltimore(Baltimore David, 1938)实验室分别发现了 RSV 病毒粒子中含有反转录酶，并且证明病毒 RNA 经反转录酶的催化，可合成病毒 DNA，从而使 Temin 的“前病毒”假想终于得到了证实。1975 年，Temin 和 Baltimore 因此项重大发现而荣获诺贝尔奖。后来，Temin 又进一步发现，RSV 的 RNA 中含有与致癌有关的核苷酸序列。由此使学者们认识到，这种肿瘤病毒之所以具有使细胞癌变的性能是由于病毒基因组中含有某一基因所致。

二、癌基因学说的提出

于是，1972 年 Huebner, R. 和 Todaro, G. 提出了“癌基因学说”(oncogene theory)。他们主张，细胞癌变是由病毒基因组中的癌基因引起的，反转录病毒的癌基因原为细胞基因组的组成部分，可能是在进化早期反转录病毒通过感染细胞而获得了癌基因。如果癌基因受到阻遏，细胞则可以保持在正常状态，一旦这种阻遏被打破，细胞就会发生恶性转化。致癌剂，如化学致癌物、辐射等，能激活这种潜在的内源病毒癌基因。Huebner 和 Todaro 认为，细胞内的癌基因是病毒基因组留下的遗迹。

RSV 中的癌基因被定名为 *src* 基因。利用分子杂交技术证明，用 *src* 制成的 DNA 探针能与鸡或其他鸟类未感染病毒的个体中的 DNA 杂交；在哺乳动物中也发现了与 *src* 相近似的 DNA 序列。由此可见，脊椎动物中普遍存在着 *src* 近缘序列。这些研究结果都证明了“癌基因学说”是正确的，得到了学术界的肯定。

为了表明病毒癌基因与细胞中的癌基因的进化同源关系，以及它们之间的区别，按照 Huebner 和 Todaro 提出的命名原则，把存在于细胞基因组中的癌基因 (oncogene, *onc*) 称为细胞癌基因 (cellular oncogenes)，而把存在于病毒基因组中的癌基因称为病毒癌基因(viral oncogenes)。癌基因简写为 *onc*，每一个癌基因用 3 个斜体英文字母命名。为了标明它们的来源不同，把病毒癌基因简写为 v-*onc*，把细胞癌基因简写为 c-*onc*。例如 *src* 基因，在细胞中的标为 c-*src*，在病毒中的则标为 v-*src*。Huebner 和 Todaro 二位学者因创建癌基因学说而获得诺贝尔奖。

三、原癌基因的认识

虽然癌基因学说是正确的，癌症确是一类遗传病，但是 Huebner 和 Todaro 关于癌基因起源于病毒基因组的看法却与事实不符。许多实验研究结果表明，脊椎动物中的细胞癌基因并非是病毒癌基因的副本，其根据如下：

1. 细胞正常基因与 v-*onc* 的同源性

在对脊椎动物正常基因分析时发现，在 17 种反转录病毒癌基因中，竟有 16 种与脊椎动物未受病毒感染细胞的正常基因同源。因此，反转录病毒癌基因可能来源于细胞基因组，而不是相反，前者是后者的副本。

2. v-*onc* 与 c-*onc* 的结构差异

在结构上，病毒癌基因与细胞癌基因有所不同，前者无插入序列（内含子），后者含有插入序列。例如，c-*src* 癌基因至少有 7 个内含子，而 v-*src* 癌基因则为不间断的连续序列。

3. 残缺 v-*src* 复原后的属性变化

有几株 RSV 病毒的 *src* 基因已失去了大部分(3/4)序列，因此这些病毒不能诱发实验动物产生肿瘤。可是当把这种不致癌的病毒注入鸡体内时，在细胞内增殖产生的病毒粒子，所含的 *src* 基因又重新复原为完整的 v-*src* 癌基因。用这种新产生的病毒粒子感染鸡和鹌鹑，又可诱发肿瘤。这是由于病毒粒子在鸡体内繁殖时，残缺的 v-*src* 与 c-*src* 基因发生重组，恢复了原来的序列。由此可见，v-*src* 与 c-*src* 基因具有相同的性能，可以相互重组。

4. 正常细胞 c-*onc* 的致癌作用

Vande 和 Scolnick 曾分离出 3 个基因，一个是小鼠的，2 个是大鼠的。如果将这些基因加接上 1 个病毒启动子，就与 v-*onc* 一样，具有诱发培养细胞转化的性能。这些培养细胞合成了大量的由这种重组基因编码的蛋白质，引起细胞癌性生长。

在发现癌基因的早期，学者们曾一度认为，细胞癌基因与病毒癌基因之间都有着同源关系。可是后来发现，有的细胞癌基因，如 *ras*，在酵母中也存在。此外，从人体肿瘤中尚分离出一些具有转化活性的基因，并没有在病毒中找到相应的序列，如 *rasN*、*Blml* 和 *tropomyosin* 基因等。在正常情况下，细胞癌基因的存在不仅是无害的，而且这些基因的正常表达是个体发育、细胞增殖、组织再生等生命活动所不可缺少的，这些基因只有发生突变时才有致癌作用，变成了癌基因。因此，病毒癌基因只是引起一个细胞癌变的诱因之一，更重要的是，与促进细胞增殖有关的基因发生突变，即会引起癌变。这样，学者们把这些具有引起细胞癌变潜能的基因称为原癌基因(proto-oncogenes)；原癌基因属显性基因，两个基因副本之一发生突变，即可引起细胞癌变，突变的基因称为癌基因(oncogenes)。至此，大家明确，细胞中正常的原癌基因突变为癌基因才是细胞癌变的内在根据。迄今已发现了许多癌基因，表 18 – 2 列出了一些反转录病毒癌基因的性质和作用。

表 18－2　一些癌基因的性质和功能

onc	反转录病毒,来源动物和诱发的肿瘤	癌基因蛋白代号	蛋白质性质	细胞定位	活性	作用
Ⅰ.生长因子: *sis*	猿猴 SV(猴,猫),肉瘤	$p28^{env-sis}$ $p76^{gag-sis}$	PDGF B 链 1.4×10^4	分泌蛋白	同或异二聚体结合	血小板生长因子 B 链、促有丝分裂;伤口愈合;早期胚胎生长因子
Ⅱ.蛋白激酶: *erb*－B	鸟类溶血病毒(鸡),红白血症,纤维肉瘤	$gp65^{erb}$	EGP 受体 1.7×10^5	外、中、内胚层细胞质膜	EGF、TGF 结合的 TK	蛋白激酶、EGF 受体、有丝分裂和分化信号传递、牙齿钻出、眼开启、肺发育
fms	McDonoug 猫 SV,(猫),肉瘤	$gp180^{gag-fms}$	M－CSF－1 受体 1.4×10^5	巨噬细胞和胚外细胞质膜	M－CSF－1 结合的 TK	酪氨酸蛋白激酶、M－CSF 受体有丝分裂和分化信号传递
ros	鸟 SV,UR2,(鸡)	$p68^{gag-ros}$	胰岛素受体	质膜	结合胰岛素	细胞分裂信号
src	RSV,(鸡),肉瘤	$p60^{src}$	6.0×10^4	黏着斑、膜的 P 面	TK;使多种蛋白质磷酸化,如黏着斑蛋白,波形蛋白	酪氨酸蛋白激酶、神经元和肌肉发育
mas	Moloney 鼠类 SV,(小鼠)	$p38^{env-mas}$	3.7×10^4	细胞质;胚胎睾丸和卵巢	SK 和 ThK	
abl	Abelson 鼠类白血病病毒,(小鼠,猫)前 B 细胞白血病;肉瘤	$p90^{gag-abl}$ $p160^{gag-abl}$ $p98^{gag-abl}$	1.5×10^5	质膜	TK;磷酸化黏着斑蛋白	酪氨酸蛋白激酶 B 细胞分化
fes	猫 SV,(猫)肉瘤	$p85^{gag-fes}$	9.2×10^4	细胞质;质膜	TK	巨噬细胞分化
fps	Fujinami SV,(鸡)	$p130^{gag-fps}$ $p105^{gag-fps}$	9.8×10^4	细胞质;质膜	TK	巨噬细胞分化
crk	ASV,(鸡)				TK 激活物	
fgr	猫 SV,(猫)	$p70^{gag-acti-fgr}$			TK	
kit	猫 SV,(猫)肉瘤	$p80^{gag-kit}$			TK	酪氨酸蛋白激酶:Steel 因子受体
mil/raf	SV,(鸡,小鼠)				SK/ThK	
sea	白血病病毒 SV,(鸡)				TK	
yes	SV,(鸡)	$p90^{gag-yes}$			TK	
Ⅲ.GTP 酶 K－*ras*	Kirsten 鼠类 SV,(大鼠),肉瘤;红白血症	$p21^{gag-ras}$	2.1×10^4	各种细胞的膜的 P 面	GTP＋GDP,结合 GTP 酶	GTP 结合蛋白,腺苷酸环化酶调节(?)
H－*ras*	Harvey 鼠类 SV,(大鼠),肉瘤;红白血症	$p21^{ras}$ $p29^{gag-ras}$	2.1×10^4			GTP 结合蛋白
Ⅳ.核蛋白 *fos*	FBJ 骨肉瘤病毒,(小鼠),骨肉瘤	$pp55^{fos}$	5.5×10^4	胚外组织、造血组织、巨噬细胞核,其他细胞低水平	DNA 与一辅蛋白结合	产物结合成 AP－1 基因调节蛋白;G_0 期至 G_1 期转变

续表

onc	反转录病毒，来源动物和诱发的肿瘤	癌基因蛋白代号	蛋白质性质	细胞定位	活性	作用
myc	鸟成髓细胞血症病毒，(鸡)，肉瘤；髓细胞瘤；癌	$p100^{gag-myc}$	6.2×10^4 - 6.6×10^4	大多数细胞核基质；某些肿瘤和胚胎组织	DNA 结合	HLH 家族基因调节蛋白细胞增殖；DNA 合成调节
myc	鸟成肌细胞瘤病毒	$p100^{gag-myc}$	7.5×10^4	造血细胞核	DNA 结合	造血细胞分化
jun	鸟 SV – 17，纤维肉瘤		4.7×10^4，与 AP – 1 转录因子同源	大多数细胞的细胞核	DNA 结合	产物结合形成 AP – 1 基因调节蛋白；激活基因表达(?)
ets	鸡	$p135^{gag-myb-ets}$	核蛋白		*v* – *myb* 补充作用	
rel	火鸡，网状内皮增殖病	$p64^{rel}$	核蛋白			与 NF – κB 有关的基因调节蛋白
ski	鸡	$p110^{gag-ski-pol}$	核蛋白			网状内皮增殖；癌
V. 其他		$p75^{gag-erb-A}$				
erb – *A*	鸟溶血病病毒	$p10^{ga-i-pol}$	TS 受体，与糖皮质激素受体同源	细胞质和细胞核	结合甲状腺素	代谢调节(?)
akt	(小鼠)	?		T 淋巴细胞肉瘤		

注释：AP – 1. 由磷酸化 Jun 蛋白与 Fos 蛋白结合形成的具有活性的基因调节蛋白，与刺激细胞增殖有关；ASV. 鸟类肉瘤病毒 (avian sarcoma virus)；EGF. 表皮生长因子(epidermal growth factor)；HLH 家族．具有螺旋 – 袢 – 螺旋结构域(helix – loop – helix motif) 的一类二聚体基因调节蛋白．与细胞分化有关；M – CSF – 1. 巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony – stimulating factor 1)；NF – KB。可激活专一基因转录的基因调节蛋白；PDGF. 血小板生长因子 (platelet – derived growth factor)；SV. 肉瘤病毒 (sarcoma virus)；SK. 丝氨酸激酶；Steel 因子受体 (Steel factor receptor). Kit 跨膜蛋白质受体，可同组织分泌的 Steel 配体因子结合．与细胞迁移有关；ThK. 苏氨酸激酶；TK. 酪氨酸激酶

实际上，所有的反转录病毒癌基因在正常细胞中都有着其相似的对应物——细胞癌基因(c – onc)。这些 c – onc 对应物即为原癌基因，一旦发生突变，也可像肿瘤病毒侵染细胞一样，引起细胞癌变。因此，我们可利用反转录病毒基因序列制成病毒癌基因的放射性 DNA 副本，以此作为探针，进行 DNA – DNA 杂交，找出脊椎动物正常细胞中的原癌基因。c – *src* 和许多癌基因即是通过这种方法检测出来的，并查清了它们在正常细胞中的功能 (表 18 – 2)。还有一些原癌基因是通过插入突变 [*Wnt* – 1(*int* – 1), *fgf* – 3(*int* – 2), *Notch* – 1(*int* – 3), *lck*]；基因扩增(L – *myc*, N – *myc*)；转导(*neu*, N – *ras*, *trk*, *ret*)、易位(*bcl* – 2, *RARa*)等方法检测出来的。

第四节　癌基因产物的转化作用机制

病毒癌基因的转化作用

据统计，人类癌症患者中约有 15% 是由肿瘤病毒引起的。肿瘤病毒中有 DNA 病

毒,也有 RNA 病毒。研究病毒致癌有一定的困难,这是由于感染病毒后有很长的潜伏期,有的甚至要延迟几年才发作为癌症;另一方面,癌症的产生要经过若干步骤,而病毒只是对其中的某一步发生作用,这就增加了分析难度。

关于病毒致癌的作用机制的研究结果,主要是靠体外培养细胞转化实验取得的。

(一)DNA 病毒

在 DNA 病毒中,对乳多孔病毒研究得比较多。这种病毒感染不同类型的细胞后,活动方式不一样。病毒基因组进入细胞后,不整合到宿主细胞基因组中,而是单独不受节制地增殖,直至导致宿主细胞裂解,释放出新的病毒粒子,这种细胞称为受纳细胞(permissive cells)。例如,猴肾细胞即为 SV40 病毒的受纳细胞,各种小鼠细胞是多瘤病毒的受纳细胞。如果病毒感染细胞后,其基因组整合到宿主 DNA 中,病毒基因组不再单独复制,而是将细胞转化为恶性细胞,这种宿主细胞则称为非受纳细胞(nonpermissive cell)。

病毒基因组进入受纳细胞与非受纳细胞后的命运和作用方式不同。例如,SV40 病毒基因组进入受纳细胞后,早基因转录区指导合成了 T 抗原和 t 抗原两种蛋白质。T 抗原在细胞核中快速积累,并结合到病毒 DNA 的一定部位上。T 抗原起 DNA 复制起始蛋白和解螺旋酶的作用,启动了病毒 DNA 利用宿主细胞的酶进行复制,同时也阻遏病毒基因组早基因转录区的转录,抑制了 T 抗原的继续合成。随后,病毒基因组中的晚基因进行转录,合成了 3 种衣壳蛋白,即 VP1、VP2 和 VP3。这些衣壳蛋白与新合成的病毒 DNA 共同装配成了成熟的病毒粒子,造成感染细胞裂解。

DNA 病毒,如 SV40,基因组进入非受纳细胞时,即整合到宿主染色体中,控制了宿主细胞 DNA 合成机构。晚基因不转录,因而不合成病毒衣壳蛋白,也就无法装配成病毒粒子。可是,早基因发生表达,合成了 T 抗原。为 T 抗原编码的基因相当于 SV40 的 *v-onc*,T 抗原单独存在即可导致宿主细胞转化,并维持细胞的转化状态。T 抗原大部分在细胞核内积累,它是一种 90kDa 蛋白质,肽链中含有 PPKKKRKV 8 个氨基酸序列构成的核输入信号,引导蛋白质进入细胞核。T 抗原的致癌作用是由于它可同宿主细胞的两个关键性的抑癌基因的蛋白质产物(Rb 蛋白和 p53 蛋白)结合,使它们失活。Rb 蛋白和 p53 蛋白是基因调节蛋白,为细胞增殖抑制因子,具有阻滞细胞增殖的作用(详见下文)。

有少量的 T 抗原可插入到细胞质膜中,成为肿瘤细胞的专一移植抗原,具有蛋白质激酶活性。

(二)RNA 病毒

RNA 肿瘤病毒均为反转录病毒,可分为两类:一类为慢性反转录病毒,感染细胞后不引起细胞转化,只是从细胞表面出芽繁殖后代;另一类为急性反转录病毒,它比前一类多了一个癌基因,能引起细胞转化。如 RSV 所含的癌基因编号为 *v-src*,其表达产物为 $p60^{src}$ 蛋白,即 Src 蛋白。此蛋白为蛋白质酪氨酸激酶,可使某些蛋白质的酪氨酸残基磷酸化。Src 蛋白在质膜内表面与跨膜受体蛋白结合,当细胞外配体与专一受体结合时,其酪氨酸激酶活性被激活,使某些蛋白质的酪氨酸磷酸化,引起细胞癌变(图 18-10)。

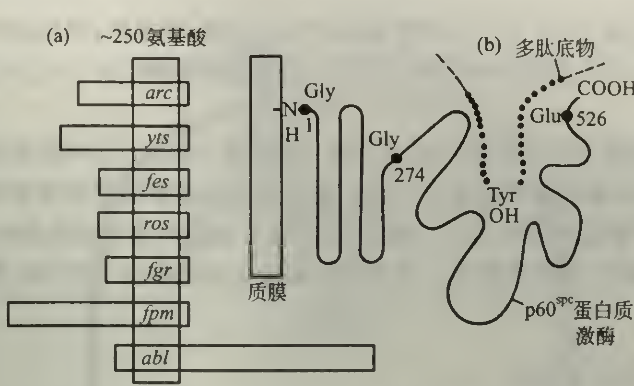


图 18－10 癌基因蛋白的酪氨酸激酶活性区段

(a) 7 种癌基因蛋白虽然大小不同，但均含有一段大约由 250 个氨基酸（矩形框内）组成的酪氨酸激酶活性区；(b)src 蛋白质激酶（$p60^{src}$）由 526 个氨基酸组成，氨基端结合在质膜上，酪氨酸激酶活性部位靠近羧基端

(三)癌基因蛋白的种类

从上面的介绍可以看出，无论是 DNA 肿瘤病毒，还是 RNA 肿瘤病毒，都是在病毒癌基因整合到宿主基因组中之后，转录合成癌基因蛋白产物，才引起细胞癌变。这些蛋白质产物在功能上都是对细胞生长和分化有调节作用的蛋白质。根据它们的作用性质可归纳为三类。

1. 蛋白质激酶

蛋白质激酶是能使蛋白质磷酸化的一类酶，它可把磷酸基加接到某些氨基酸的 R 侧链的 OH 基上（图 18－11）。在正常细胞中，带有磷酸酪氨酸的磷酸化蛋白质含量很低，只占磷酸化蛋白质的 0.1%。但是如果细胞受到带有 *v-src* 癌基因的病毒的感染，情况则大为不同。由 *v-src* 癌基因编码的蛋白质（$pp60^{src}$）是结合在质膜上的蛋白质激酶，它可使酪氨酸磷酸化，在转化细胞中磷酸化酪氨酸的量比原水平提高了 10 倍。后来发现，在正常细胞中 *c-src* 也是编码使酪氨酸磷酸化的蛋白质激酶的原癌基因，虽

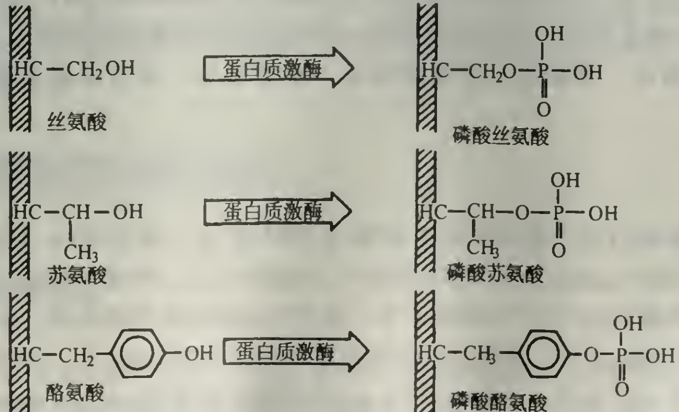


图 18－11 癌基因编码的蛋白质激酶可使细胞中的某些蛋白质的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸磷酸化

然它的表达产物比较少,但足可以维持细胞的正常代谢。很显然,细胞的转化与酪氨酸磷酸化过高有关。有许多癌基因的表达产物均为酪氨酸激酶,如 *src*、*yes*、*fgr*、*abl*、*fps*、*fes* 和 *ros* 等。

有些蛋白质激酶存在于质膜的点状接触(黏着斑)部位,它可使各种靶蛋白磷酸化,包括黏着斑蛋白和细胞骨架蛋白。因此,这些蛋白质激酶活性的改变对质膜与基底物的接触,以及对细胞的存活、生长、形态、运动和分化都有着深刻的影响。在 RSV 肉瘤病毒转化的细胞中,黏着斑蛋白中的酪氨酸磷酸化的量增长了 20 倍,使细胞活动发生了深刻变化。

2. 生长因子和生长因子受体

体内有些组织分泌一些对细胞生长有调节作用的多肽,称为生长因子(growth factor),这些因子可与细胞质膜上的专一膜蛋白结合,这种膜蛋白称为生长因子受体(growth factor receptor)。生长因子同其专一受体结合后,可激发细胞内的信号传递系统,引起 DNA 合成和有丝分裂,或特定基因表达。有些癌基因的蛋白质产物与生长因子或生长因子受体很相似,参与了细胞信号转导。

血小板生长因子(platelet - derived growth factor, PDGF)相对分子质量(Mr)约 30kDa,与 v-*sis* 癌基因的蛋白质产物的一部分相同。v-*sis* 是猿猴肉瘤病毒(Simian sarcoma virus, SSV)基因组中的癌基因,被 SSV 转化的成纤维细胞,其 v - *sis* 癌基因的蛋白质产物可与细胞质膜中的 PDGF 受体相互作用,二者结合后,刺激细胞内某些蛋白质磷酸化,导致细胞无限生长。正常细胞的 PDGF 受体是对其他细胞分泌的 PDGF 发生反应,而转化细胞自身可分泌 PDGF,并与自身的 PDGF 受体结合,从而增强了细胞信号转导效应,促进了细胞增殖。

在表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的作用方面也有与 PDGF 类似的情况。EGF 受体是一种大的糖蛋白分子,Mr 为 175kDa,具有酪氨酸激酶活性。它与 EGF 结合后活性可增长几倍。EGF 受体蛋白的氨基酸序列与 v-*erb*-B 癌基因蛋白质产物相似。v-*erb*-B 是鸟类红细胞增多症病毒(avian erythroblastsis virus, AEV)基因组中的癌基因。

根据对 PDGF 和 EGF 及其受体以及相应的癌基因产物的研究结果表明,细胞转化与蛋白质激酶的活动有关。生长因子受体是跨质膜脂双层的整合膜蛋白,受体部位位于细胞质膜外侧,而酪氨酸激酶活性部位位于质膜的细胞质侧。生长因子同受体部位结合,激活了受体的具有酪氨酸专一活性的蛋白质激酶活性部位,催化细胞内的靶蛋白磷酸化。被磷酸化酪氨酸通过一定的途径,促进细胞增殖(图 18 - 12)。

3. 核癌蛋白

某些癌基因蛋白质产物在核内可直接与 DNA 结合,调节 DNA 复制或基因表达。例如,可引起 Burkitt 淋巴肉瘤(Burkitt's lymphoma)(一种常见的由 Epstein-Barr (EB)病毒或 8 号染色体与 14 号染色体专一易位引起的颈淋巴腺肉瘤,多发于中非)的 c-*myc* 癌基因活化表达,其蛋白质产物可在核内结合到 DNA 上,引起 DNA 连续复制。此外,像 *ski*、B-*lym*、c-*myb* 和 c-*fos* 等基因的癌蛋白(oncoproteins)也是在核内起作用。这些癌蛋白可结合到 DNA 中的某些与细胞分裂有关的基因上,从而影响

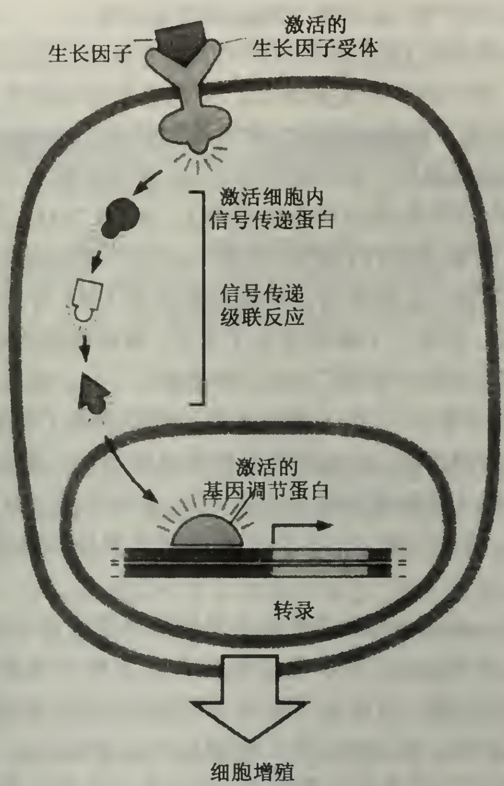


图 18－12　生长因子受体与生长因子结合，激活受体蛋白激酶区示意图

EGF 受体结合上 EGF 后，其激酶区被激活，催化靶蛋白酪氨酸残基磷酸化，再通过信号传递级联途径，引起细胞进行 DNA 合成和有丝分裂。某些癌基因表达产物类似于生长因子或生长因子受体，亦可促进细胞增殖

基因的复制和转录，促进细胞有丝分裂。

第五节　原癌基因的激活与细胞癌变

据鉴定，人体中大部分肿瘤并不是由病毒引起的。正常细胞中虽也存在着原癌基因，但其活动要受到严格的精密控制，其编码产物是细胞生长和分化所必需的，不会引起癌症。然而，当原癌基因发生了变化，产生了超出细胞活动所需要的产物，即可引起细胞癌变。原癌基因的这种变化称为原癌基因的激活。原癌基因的激活有多种途径。

一、原癌基因的激活途径

(一)原癌基因突变

早在 20 世纪 60 年代即已发现，诱变剂也是致癌剂，而且诱变剂的诱变能力与致癌能力成正比。在小鼠实验中已证明，能损伤 DNA 的分子，即可致癌。通过 DNA 序列分析表明，有的癌细胞的癌基因激活是由于原癌基因本身一定部位的核苷酸发生了

改变,合成了异常的蛋白质产物,从而使细胞出现转化表型。

从人膀胱癌细胞分离出的 DNA 能使 NIH3T3 细胞发生转化，从这种转化细胞分离出的 DNA 又能使另一组 NIH3T3 细胞转化。将能引起细胞恶性生长的人体基因分离出来，通过分子杂交证明，它是大鼠的 2 种反转录病毒（Harvey 肉瘤病毒和 Kirsten 肉瘤病毒)癌基因 v-*ras* 的同源物。癌细胞中的 c-*ras* 基因的激活并不表现为基因表达增强。*Ras* 基因编码 p21 蛋白,此蛋白结合在质膜上,*Mr* 为 21kDa。用人膀胱癌细胞中含活化 *ras* 基因的 DNA 转染 NIH3T3 细胞,细胞中的 p21 蛋白的水平并未明显上升。将从膀胱癌细胞中分离出的 *ras* 基因与正常细胞的相应 DNA 片段比较表明，激活的 *ras* 基因与正常基因相比，只有一个碱基发生了变化，即原癌基因中为第 12 个氨基酸编码的密码子，由 GGG(甘氨酸)变成了 GTG(缬氨酸)。v-*ras* 也是在同一个密码子上发生了改变,使 p21 蛋白的第 12 个氨基酸残基由甘氨酸变成了精氨酸或丝氨酸。甘氨酸对 p21 蛋白的功能有深刻影响，甘氨酸被置换即要影响 p21 蛋白的活性，使细胞生长特性发生变化。在其他人体肿瘤细胞系中还发现,在这种由 189 个氨基酸组成的蛋白质中,除了第 12 位外,第 13、59、61 或 63 位氨基酸如果被转换成其他氨基酸,也会激活其转化活性。

从由亚硝基脲(nitrosomethylurea)诱发的大鼠乳腺癌细胞中也发现,其 *ras* 原癌基因的第 12 密码子的 G 突变为 A。Ras 蛋白是结合在质膜内表面的 GTP 结合蛋白(GTP-binding protein)(GTP 酶),当其与 GTP 结合时具有活性,进而激发细胞内的磷酸化级联反应。*ras* 原癌基因发生点突变后所编码的 Ras 蛋白失去了水解与之结合的 GTP 的能力，故便一直处于不正常的活跃状态，把细胞内不该传递的细胞增殖信号传递下去,引起不正常的细胞增殖。于是有的学者提出了原癌基因激活的“点突变”(point mutation)假说,主张在致癌因子的作用下原癌基因为蛋白质编码区的某一特定位点的碱基发生改变,即会导致细胞癌变。北京肿瘤研究所的邓国仁(1985)从人胃癌细胞中分离出了活化的癌基因,经检测,其核苷酸序列与正常细胞的原癌基因相比,也只有一个碱基发生了突变。这说明原癌基因点突变引起细胞癌变不是个别现象。

（二）插入突变

原癌基因可由于反转录病毒的参入而转变为癌基因。这种转变可有两种方式：①基因的序列改变或截断，致使编码的蛋白活性失常；②原癌基因受到了病毒基因组中的强启动子和强增强子的控制，合成了过多的蛋白质或者在不适当的情况下合成蛋白质。

反转录病毒也可以另一种方式起癌基因的作用，病毒的 DNA 副本直接插入到宿主细胞基因组中临近原癌基因的部位，或者插入到原癌基因之中，结果使此基因变为癌基因。基因的这种变化称为插入突变(insertional mutation)。原癌基因上游如果插入了病毒强启动子,基因即会过分活跃,此即称为启动子插入(promoter insertion)。例如,用 RSV 转化的细胞中,$pp60^{src}$ 蛋白的含量比正常细胞高出 10～100 倍,但在性质上这种蛋白质与 c-*src* 基因的表达产物没有什么差异，只是由于量的增加使转化细胞代谢失衡,导致细胞恶性增殖。又如鸟类白细胞组织增生病毒(avian leucosis virus, ALV)的启动子插入到宿主细胞基因组的 *myc* 原癌基因附近，即可使 c-*myc* 转录增强。这时 c-*myc* 基因的染色体结构变成了高度活跃状态,对 DNA 酶 I 很敏感(图 18－13)。

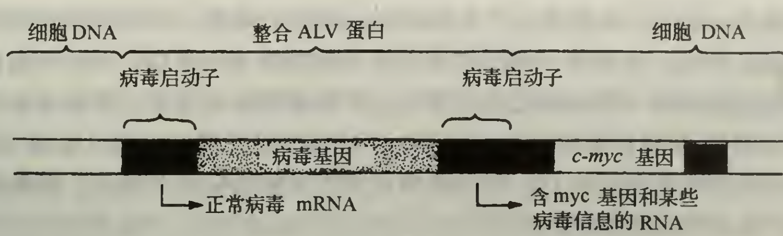


图 18 - 13 细胞原癌基因插入突变示意图

当 ALY 随机整合到宿主基因组中时,可随宿主基因组一起复制。如果病毒启动子整合到 c - *myc* 基因附近,则会控制 c - *myc* 的活动

(三)染色体重排

染色体重排(chromosomal rearrangement)也是癌基因激活的途径之一。所谓染色体重排即是指染色体部分序列通过倒位或易位重新连接的畸变。例如 B 淋巴细胞瘤常是因染色体重排而使 c-*myc* 的表达失控。Burkitt 淋巴肉瘤常发生 8/14, 8/2 和 8/22 染色体易位现象, c-*myc* 基因位于 8 号染色体上,而免疫球蛋白重链 C_μ 基因,轻链的 V_κ、C_κ 链基因和 C_λ 链基因分别位于 14、2 和 22 号染色体上。易位时,原在 8 号染色体上的 c-*myc* 转位到 14, 2 或 22 号染色体上,均可单独引起细胞癌变。易位后由于 c-*myc* 基因靠近免疫球蛋白的增强子,从而导致 c-*myc* 的转录活性提高了 5 ~ 10 倍。基因表达产物过量,使淋巴细胞快速增殖,发生癌变(图 18 - 14)。

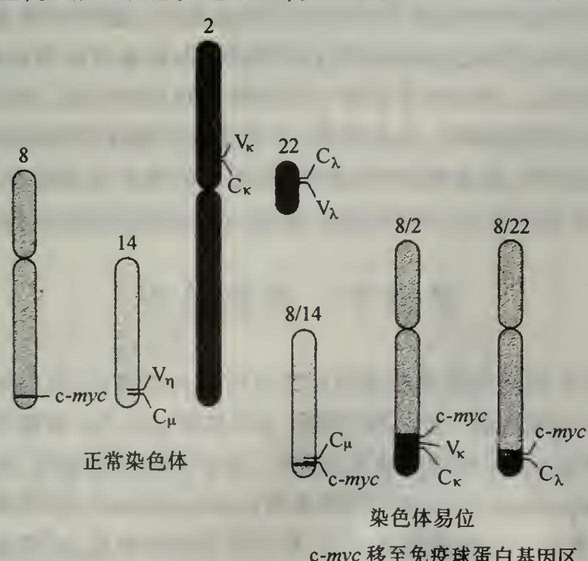


图 18 - 14 B 细胞 Burkitt 淋巴瘤 3 种染色体易位情况

C_μ 为重链基因,C_κ 和 C_λ 为两种轻链基因,分别位于 14、2 和 22 号染色体上。c - *myc* 基因无论易位到这 3 个免疫球蛋白基因的哪一个增强子区,均可引起 B 淋巴细胞发生 Burkitt 淋巴瘤

(四)基因扩增

原癌基因的激活的又一条途径是基因扩增。在人神经母细胞瘤细胞中,含有许多 v-*myc* 的副本,称为 N-*myc*(N 表示神经),这是基因扩增的结果。基因扩增可

转录出过多的 mRNA，从而合成了大量的 Myc 蛋白。通常，细胞在接收到生长信号时才合成 Myc 蛋白。可是由于基因扩增合成了过多的 Myc 蛋白，在正常降解后还有剩余，使细胞核继续不断地接受生长信号，导致细胞快速增殖。肿瘤细胞中常出现双微小体（DM）和染色体匀染区（HSR），即是基因扩增的表现（见图 18 – 2）。人的白血病和结肠癌细胞的 DM 和 HSR 即含有扩增的 *myc* 原癌基因，癌基因表达产物的大量产生，导致细胞癌变。

二、细胞癌变是多次基因突变的结果

前面介绍了病毒癌基因和原癌基因突变会引起细胞癌变。癌症是起始于一个细胞突变，而人体是由大量体细胞组成。人的一生要进行 10^{16} 个次细胞分裂。这样，根据计算即便是不接触致癌剂，每个基因也要发生 10^{-6} 自然突变。因此，可以推算出，人的一生中每个基因会有 10^{10} 突变概率。由此估计，一个突变细胞中应当有许多与细胞增殖有关的基因发生突变，失去了对细胞增殖的调控能力。然而事实上，人体癌症发病频率并没有像预想的那样高。由此可见，一次突变并不足以将一个健康细胞转变成癌细胞。一个细胞癌变要求在一个细胞中发生几次单独的突变，它们共同作用才能诱发细胞癌变。经统计，一个细胞转化需要发生 3 ~ 7 次单独的随机突变。

虽然癌症起始于一个细胞突变，但是这个突变细胞的后代必须经过几次突变，才能形成癌症。根据流行病学的统计表明，癌症的发病率随年龄的增长而提高，而且是几何级数提高，癌症的发病率是年龄的 3，4 甚至 5 次方。癌症的渐进发生过程非一日之寒，需要几年的时间，在此期间既要有内因的作用，也要有外因的诱发，致突变的诱变剂要有剂量积累效应。癌症的发生要有许多因子的共同作用。体内尚有免疫监控系统，可随时扑捉和杀灭癌细胞。由此可见，许多癌症不是不可避免的。只要有基础医学、遗传学、细胞生物学、临床医学、生态学、环境保护等方面的研究人员通力合作，不懈努力，癌症的发生可以受到一定的遏制，最后达到制服癌症的目的。

第六节　抑癌基因

前面我们介绍了细胞中的原癌基因被激活后变为癌基因，引起细胞癌变。原癌基因都是一些与促进细胞增殖、分化和迁移有关的基因。此外，细胞中还有另一类基因与遏制细胞增殖有关，这类基因的缺失或失活，也可引起细胞癌变，这类基因称为肿瘤抑制基因（tumor suppressor genes）或抑癌基因（antioncogenes）。抑癌基因与原癌基因不同之处是，后者只要有一个基因副本突变，即可导致细胞转化，而抑癌基因需要有两个副本均发生突变失活，才能引起细胞癌变。在正常细胞中，两类基因协调配合，共同维持细胞的正常增殖活动。

一、抑癌基因的发现

（一）瘤细胞杂交实验的启示

早在 1968 年，Harris 在实验中发现，把瘤细胞与正常二倍体细胞融合成杂交瘤细

胞，这种杂交细胞不再显示瘤细胞的恶性表型，将这种杂交瘤细胞接种到适当的宿主细胞体内，亦不再生瘤。这种杂交细胞在体外传代培养中，大部分要发生分化和衰老。但是其中有少数细胞在传代过程中发生染色体丢失现象，当某一特定染色体丢失后，杂交细胞又重新出现恶性表型。有的学者又进一步证明，如果把人的 11 号染色体导入 Wilms 瘤（肾癌）细胞中，则瘤细胞又可变为正常细胞。

这些实验结果表明，肿瘤细胞的恶性生长与某条染色体上的特定基因丢失有关。这种基因的丢失与原癌基因的激活一样，能使正常细胞转化为癌细胞。

（二）*Rb* 基因的发现

特定染色体的丢失导致细胞癌变的现象使学者联想到，在二倍体细胞中可能存在着抑制癌变的隐性基因，当两个基因副本都缺失或失活时，细胞即发生癌变。于是，便产生了抑癌基因的初步概念。

在儿童眼中发生一种罕见的肿瘤，称为成视网膜细胞瘤（retinoblastoma），这种肿瘤是由视网膜中神经前体细胞癌变产生的。成视网膜细胞瘤分为遗传型和非遗传型两种，在遗传型中通常都是两眼都生瘤，且有时还发生在骨骼中，而在非遗传型中，则只有一只眼睛生瘤，且是一个瘤。Knudson（1971）的研究表明，成视网膜细胞瘤是由细胞中的两个等位基因经两次突变产生的。在遗传型患者中，第一次突变是通过双亲中的一方传递而来，故婴儿的所有体细胞都带有这一基因突变，于是幼儿只要有一个成视网膜细胞再度发生第二次突变即可变成瘤细胞，产生成视网膜细胞瘤。遗传型成视网膜细胞瘤患者发病早，且成多发性和双侧（眼）性。非遗传型的患者不带有双亲传递下来的突变，故视网膜中的神经前体细胞要发生两次突变才转化成瘤细胞，此型发病概率低且晚，并为单发性（图 18－15）。

后来发现，成视网膜细胞瘤细胞的第 13 号染色体，在特定部位（13q14.1）发生了缺失，将此缺失的基因定名为 *Rb1* 基因，这是发现抑癌基因的第一个例证。*Rb1* 基因的长度为 200kb，其表达产物为 $p105^{Rb}$ 蛋白。$p105^{Rb}$ 蛋白由 928 个氨基酸组成，*Mr* 为 60kDa。

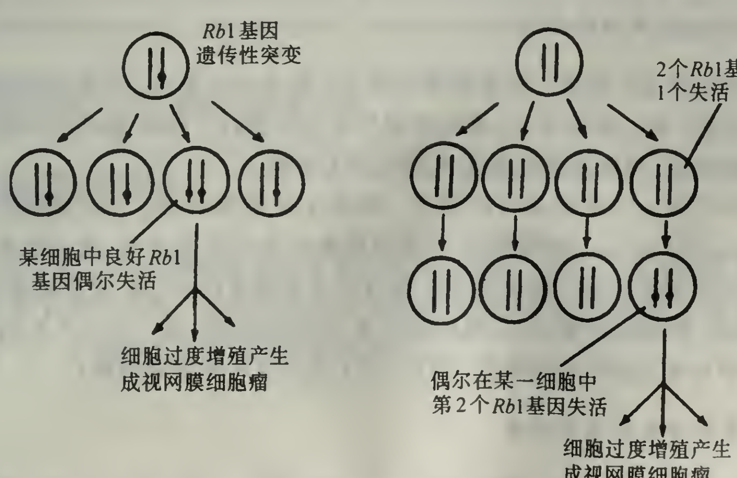


图 18－15　成视网膜细胞瘤的遗传变化机制

左图示遗传性成视网膜细胞瘤，带有遗传突变的人大部分生瘤；右图示非遗传型成视网膜细胞瘤，约近 3 万分之一的正常人会生瘤

Rb 基因除了与成视网膜细胞瘤的发生有关外,还发现与肺癌、乳腺癌和膀胱癌有关。

Rb 基因几乎在所有细胞中都表达，其作用主要是在细胞分裂周期中起刹车作用。Rb 蛋白的作用是通过磷酸化和去磷酸化调节细胞周期活动。因此,它是一种细胞生长调节因子。Rb 蛋白在各种细胞的核中很丰富,当细胞处于 G_0 和 G_1 期时,Rb 蛋白一直处于去磷酸化状态。去磷酸化 Rb 蛋白具有活性,可同特定的基因调节蛋白结合,抑制后者不能刺激与细胞增殖有关的基因进行转录。当细胞受到细胞外信号,如生长因子的作用，表达细胞周期蛋白依赖蛋白质激酶（cyclin – dependent protein kinases, CdK)时, CdK 激酶与周期蛋白(cyclin)结合后被激活,使 Rb 蛋白中的若干丝氨酸和苏氨酸磷酸化。Rb 蛋白磷酸化后,失去活性,从而使基因调节蛋白获得活性,细胞越过 G_1 期控制点(checkpoint),由 G_1 期进入 S 期,进行分裂。在 *Rb*1 基因发生突变而丧失功能时,基因调节蛋白得以激活,促进了 DNA 的复制,与细胞增殖有关的基因 *fos* 和 *myc* 高水平转录。

由此可见，*Rb1* 基因的功能与原癌基因的作用相反，抑制细胞增殖，故称抑癌基因。李文化等(1987)亦分离出了 *Rb1* 抑癌基因。成视网膜细胞瘤患者中有 30% 以上存在有染色体 13q14. 1 缺失,其余的则具有各种突变形式,如缺失一个外显子、发生点突变等。此外,在骨肉瘤、乳腺癌、膀胱癌和肺癌中 *Rb1* 抑癌基因亦往往失活。

如上所述, *Rb1* 抑癌基因的表达产物 $p105^{Rb}$ 蛋白 (Rb 蛋白) 的主要作用是调节细胞周期活动和维持细胞正常生长。像其他 DNA 结合蛋白一样,Rb 蛋白含有锌指结构,以此结构插入 DNA 双螺旋的大沟中发挥作用。Rb 蛋白是通过去磷酸化与磷酸化变化来发挥调节作用的, 磷酸化后则失去活性, 即失去了抑制细胞增殖的能力。癌变细胞中的 *Rb1* 抑癌基因是通过突变发生缺失或失活，同样也失去了对促进细胞增殖的基因调节蛋白的抑制能力。

(三) *p53* 抑癌基因

p53 基因是另一个研究得比较多的抑癌基因。

1. DNA 损伤是 *p53* 激活的诱因

p53 基因的表达产物是一种基因调节蛋白，称为 p53 蛋白，该蛋白对细胞周期的进程有调节作用,在一般情况下,细胞中很少有 p53 蛋白。DNA 损伤会引起 p53 蛋白的浓度和活性提高,但此现象的发生机制尚不太清楚。

p53 蛋白可同 p*21* 基因调节区结合，激活 *p21* 基因转录。p21 蛋白是一种 CdK (cyclin – dependent kinase)抑制蛋白。S 期周期蛋白与 CdK 结合后,形成的复合物具有驱动细胞进入 S 起的作用。但如果 p21 蛋白同 S 周期蛋白 – CdK 复合物结合,可抑制复合物的活性，使细胞停留在 G_1 期的监控点（checkpoint）处，不进入 S 期（图 18 – 16)。这样,即可有足够的时间修复 DNA。p53 蛋白也可诱导细胞凋亡。

2. *p53* 基因突变可诱发多种肿瘤

如果 *p53* 基因发生突变，缺失或丢失，S 周期蛋白 – CdK 复合物则不受抑制地引导含有损伤 DNA 的细胞进入 S 期，并进行细胞分裂。这就提高了细胞后代的突变频率,引起细胞癌变。因此,*p53* 基因在人体癌症发生方面起着重要作用。

有的人从亲代承继下来的 *p53* 基因,只有一个副本有功能,另一个发生了突变。

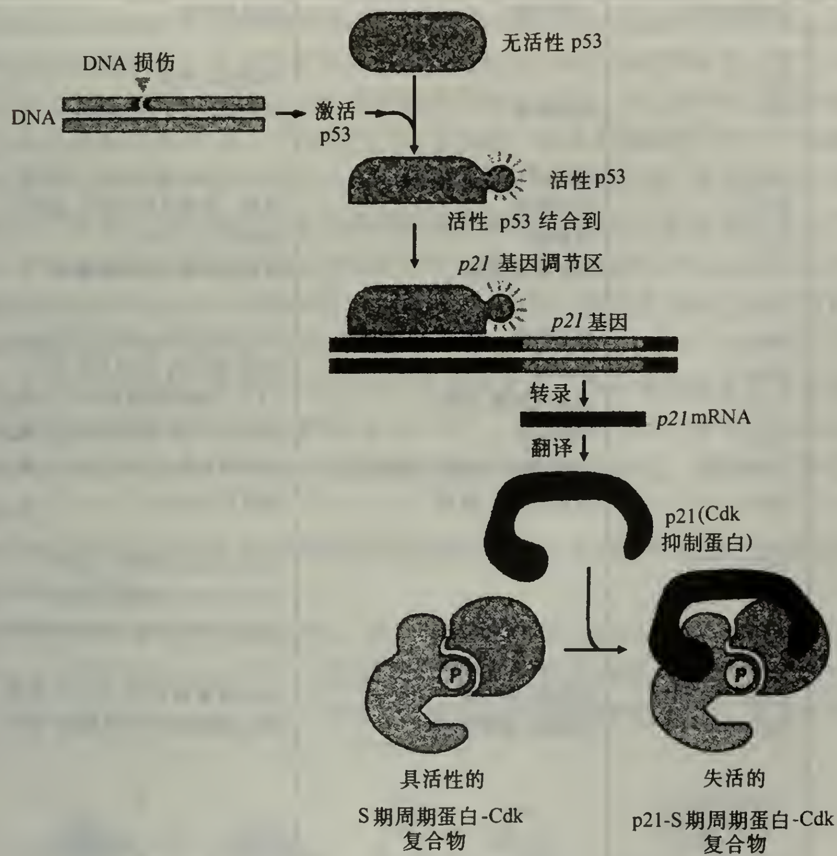


图 18－16 p53 蛋白使细胞停留在 G_1 期的作用机制示意图

当 DNA 发生损伤时，p53 蛋白的含量和活性有所提高。激活的 p53 蛋白刺激 *p21* 基因转录，p21 蛋白编码 CdK 抑制蛋白。p21 蛋白与 S 期周期蛋白－CdK 复合物结合，抑制复合物的活性，因此之故，细胞周期停留在 G_1 期

具有这种遗传性的人发生癌症的概率较高。

二、抑癌基因的类别

迄今，已发现有许多种与肿瘤发生有关的抑癌基因，它们分别在细胞信号传递途径的不同环节上发生作用。这些基因的突变和缺失可导致细胞癌变，并影响着癌细胞的转移。表 18－3 列出了不同类别的抑癌基因。

表 18 - 3 抑癌基因的类别、作用和性质(引自方祎等 1998)

基 因	染色体定位	引发肿瘤	蛋白质产物
跨膜受体			
PTCH	9q22.3		Hedgehog 受体
DCC	18q	结直肠癌	细胞黏合分子,153kDa
细胞调节因子或结构蛋白			
NF1	17q11	肉瘤、神经胶质瘤	Ras GTPase 激活因子,327kDa
NF2	22q12	神经鞘瘤	质膜 - 细胞骨架连接处,66kDa
APC	5q21	结肠癌	胞质蛋白,310kDa
PTEN	10q23.3	成胶质细胞瘤	细胞骨架蛋白和磷酸酯酶
转录因子和转录调节因子			
MADR2	18q21	结直肠癌	TGFβ 调节的 MAD 相关蛋白
DPC4	18q21.1	胰腺癌	TGFβ 调节的 MAD 相关蛋白
Rb1	13q14	成视网膜瘤、肉瘤	G1 至 S 期转录调节因子,110kDa
WT1	11p12	Wilms 瘤	转录因子(具有锌指结构),45kDa
P53	17p13	肉瘤、神经胶质瘤、乳腺癌	转录调节因子,调节 G1→S 期,53kDa
VHL	3p25	嗜铬细胞瘤、肾癌	膜蛋白,34kDa
细胞周期因子			
p16	9p21		Cdk4、Cdk6 抑制剂,16kDa
p15	9p21		Cdk4、Cdk6 抑制剂,15kDa
p21	6p21		Cdk2、Cdk4、Cdk3、Cdk6 抑制剂,21kDa
DNA 损伤修复因子			
BRCA1	17q21	乳腺癌、卵巢癌	DNA 修复因子,与 RAD51 作用
BRCA2	13q12	乳腺癌、胰腺癌	DNA 修复因子,与 RAD51 作用
MSH2			
MLH			
PMS2			
ATM			
其他			
NB1	1p36	成神经细胞瘤	
MLM	9p21	黑色素瘤	
MEN	11q13	垂体瘤	
BCNS	9q31	成神经管细胞瘤、皮肤癌	
RCC	3p14	肾癌	丝氨酸蛋白酶抑制剂
Maspin 基因	18q21.3	乳腺癌	

注释:Cdk. 周期蛋白依赖激酶;MAD. 某些转录因子中的 MAD 框;RAD. 射线敏感基因编码产物

第七节 畸胎瘤与胚胎干细胞

畸胎瘤

在人体生殖腺中有一种比较少见的肿瘤,它是由各种紊乱的分化组织组成,如皮肤、骨骼、腺上皮、肠道等,也混杂有未分化的干细胞,这种肿瘤称为畸胎瘤(teratoma)。

(一)畸胎瘤技术的建立

1954 年 Stevens 和 Little 利用实验手段诱发小鼠产生畸胎瘤获得成功，制作成了畸胎瘤动物实验模型。他们的制作方法是，把囊胚阶段的小鼠胚胎植入雄性小鼠的睾丸囊下面，胚胎组织生长紊乱，再把其转移到肾淋巴结处生长，即形成了畸胎瘤。然后将畸胎瘤组织取出捣碎，注入小鼠腹腔中，便形成了腹水型畸胎瘤，产生了具有三个胚层的胚胎样小体 (embryoid bodies)。小体是由皮层和内核组成，皮层是包在外表的一层细胞。把这些小体连续不断地向健康小鼠腹腔接种，则可不断地增殖和传代。

如果把胚胎样小体的内核细胞取出，注入到小鼠正常胚泡的腔中，然后再把这种含畸胎瘤细胞的胚胎植入到假孕母鼠的子宫中，则仍可发育成具有生殖能力的正常小鼠。瘤细胞的恶性表型消逝，也像正常细胞一样，参加了组织分化。利用具有不同表型的不同品系小鼠做的实验表明，这些后代小鼠表现出了含有瘤细胞来源小鼠正常基因组的遗传性状，如毛色、同工酶谱等(图 18－17)。由此可见，畸胎瘤的发生并不是由于某个基因的突变，而是由于胚胎细胞或性细胞发育环境的变化，接受到了不适当的信号引起的。

畸胎瘤技术的研究成功为转基因动物和嵌合体动物的制作创造了条件。因此是一项重要的技术突破。

如果在体外适当的细胞培养条件下再增加一种生长因子——白血病抑制因子 (leukemia inhibition factor, LIF)，瘤细胞即可连续恶性增殖而不分化，变成了畸胎瘤干细胞(teratocarcinoma stem cell)。这些干细胞仍保持着发育的多能性，具有分化为各种

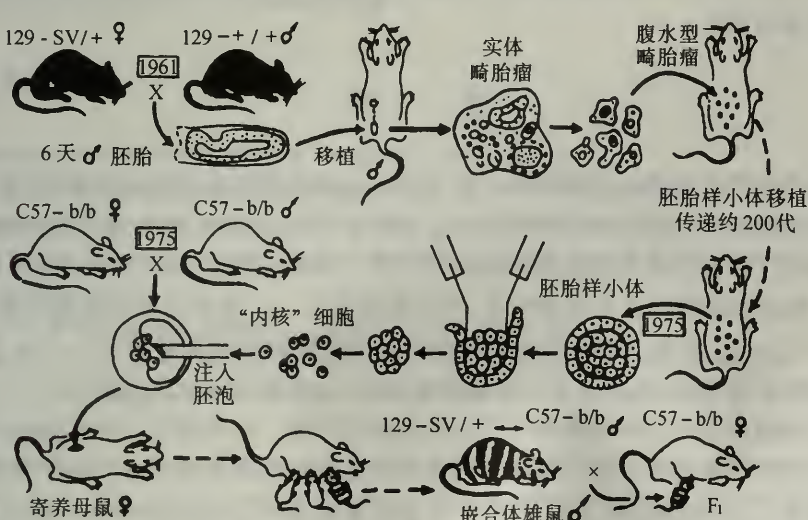


图 18－17 畸胎瘤制作技术和瘤细胞遗传性变化示意图

1967 年 Mintz 等将黑色毛的 129/SVS1JCP 品系小鼠的 6 天胚胎植入睾丸囊下面，生成紊乱的胚胎组织，再将胚胎组织转移到肾淋巴结，产生了畸胎瘤。然后将原发肿瘤切碎注入腹腔内形成腹水型畸胎瘤。腹水中含有胚胎样小体。至 1975 年，在同基因型的雄性小鼠腹腔内连续转移了 200 代，从胚胎样小体中取出内核细胞，注入 C57－b/b(C57BL/6－b/b)纯系(棕色毛)双亲生的胚泡中。每个胚泡注入 5 个瘤细胞，再把胚泡植入白色毛的孕鼠子宫内，孕育到期，生出了具有嵌合体毛色(黑棕条纹相间)的正常小鼠。将此种嵌合体雄鼠与 C57－b/b 雌鼠交配，产生的仔鼠中有的为黑毛，说明嵌合体雄鼠含有起源于畸胎瘤细胞的正常精子

组织的能力。

然而畸胎癌细胞存在着一个明显的缺陷，即大多数细胞的核型发生异常，因此参与产生嵌合体种系的成功率很低。而且还有肿瘤源性，容易造成嵌合体生瘤。尽管如此，畸胎瘤技术仍不失为细胞工程中一项重要进展，为后继工作建立了理论和技术基础。

(二)胚胎干细胞的研制成功

畸胎瘤技术的实验成功，使人们认识到胚泡中含有多能干细胞，可参与各种正常组织的分化，包括性细胞的分化，因而是一项很有应用价值的技术。

1981 年，英国剑桥大学的 Evans, M. J. 和 Kaufman, M. H. 将小鼠囊胚的内细胞团细胞取出，在适当的条件下进行培养，获得了可以传代的多能干细胞系，称为 EK(二位学者的姓氏字首)细胞。后来有的学者以不同的方法也培养出了这种细胞，称为胚胎干细胞(embryo stem (ES)cell)。现在统一命名为 ES 细胞。ES 细胞较畸胎瘤细胞优越之处是，它来自于正常二倍体胚胎细胞，具有完整的核型，形成嵌合体动物的效率高，且可在体外长期培养，但在培养液中必须加入 LIF 因子。只要培养条件适宜，细胞可只分裂而不分化地连续传代，且保持多能性，因而用于实验比较理想(参见第十九章第二节"胚胎干细胞与基因敲除"部分)。

在生物学研究中，ES 细胞的用途十分广泛。在遗传工程研究方面，除了可用于制作嵌合体动物，进行遗传学研究外，还可以用作制作转基因动物的载体。在基础理论研究中，则可用于研究细胞分化、组织发生、癌变机制、基因表达、基因敲除（knock – out）和基因定位整合等。近来，ES 细胞用于某些疾病临床治疗的研究也取得了可喜的苗头。

提　　要

癌是当今严重危害人类健康的一类常见病。癌的发病基础是细胞癌变，增生失去控制。诱发细胞癌变的诱变剂多种多样，总括起来可分为 3 类，即物理、化学和病毒。对癌变机制的认识首先是从发现病毒癌基因开始。致癌病毒有 RNA 性的，也有 DNA 性的。RNA 性的致癌病毒为反转录病毒，其致癌基因为 *src*。病毒中的致癌基因称为病毒癌基因(v – *onc*)。存在于细胞中的病毒癌基因同源物称为细胞癌基因(c – *onc*)。调节细胞增殖的正常基因，突变后变为致癌的癌基因，这种基因称为原癌基因。

癌是细胞发生突变对增殖和存活失去控制的产物。它来源于一个突变体细胞，但其后代尚需要另外几次突变。细胞基因组中与癌变有关的基因大体上可分为两类：一类是增殖基因(proliferation genes)；另一类是抗增殖基因(antiproliferation genes)。增殖基因发生突变则变为癌基因，会引起蛋白质产物表达过量或活性过低，导致细胞过分增殖。这种正常的增殖基因即为原癌基因。而抗增殖基因则与此相反，使抗增殖基因的突变失活，导致细胞增殖失去控制，细胞过度增殖，从而形成癌。这类基因称为抑癌基因。

原癌基因突变致癌是一个渐变过程，通常需要几年。在此期间须有致癌剂的积累效应。原癌基因的正常表达产物是细胞生长所必需的。原癌基因的编码产物有蛋白质激酶、生长因子和生长因子受体，以及转录调节因子等。原癌基因激活后，引

起细胞癌变。原癌基因激活包括有几种方式，如基因突变、强启动子插入、染色体重排和基因扩增。

肿瘤抑制基因亦称抑癌基因，其正常产物的功能是抑制细胞增殖或浸润。抑癌基因的失活，导致细胞无限增殖，细胞癌变。最早发现的抑癌基因是 *Rb1* 基因，此基因失活，引起细胞癌变，如发生视网膜细胞瘤。抑癌基因为隐性基因，必须两个副本都突变才失活。如果亲代传递给后代的某一抑癌基因中有一个等位基因无功能，那么这个后代个体易患癌。

畸胎癌是胚胎多能干细胞癌变产生的，但其发生机制不同于其他癌变，它不是由于细胞基因突变引起的，而是由于接受到不适当的发育信号造成的。

畸胎癌干细胞和胚胎干细胞的制作成功，是细胞工程的重要技术突破，这一技术在遗传学、细胞分化、癌变机制等方面的研究有着重要的价值，也是制作嵌合体动物和转基因动物的重要手段。

复习思考题

1. 物理、化学和病毒致癌剂在致癌机制上有何不同？
2. 反转录病毒是否都具有致癌性能？反转录病毒致癌作用的发现在细胞癌变机制的研究中有何重大意义？
3. 如何评价癌基因学说的创立？
4. 何谓原癌基因？原癌基因的激活包括哪几种方式？
5. 抑癌基因是否即是抑制癌基因表达的基因？它在引起细胞癌变机制方面与原癌基因有何不同？
6. 畸胎癌是怎样发生的？畸胎癌细胞可用于哪些研究？有何缺陷？
7. 胚胎干细胞是怎样出来的？有哪些重要用途？

主要参考文献

方 祎，查锡良，1999. 抑癌基因与肿瘤转移. 生命的化学，19(1)：13～161.

蒋新农，周柔丽，1998. 肿瘤细胞黏附、迁移与转移的相关性. 生物化学与生物物理进展，25(5)：404～407

彭朝晖，薛京伦，徐 锇，1994. 基因治疗——基础与临床. 北京：中国科学技术出版社，182～232

徐 洁，丛笑倩，姚 鑫，1991. 维生素A酸和双丁酰基环腺苷单磷酸对小鼠胚胎干细胞的诱导分化. 实验生物学报，24(4)：353～367

钟叔平，1998. 核基质与瘤基因、抑瘤基因. 生物化学与生物物理进展，25(1)：7～8

庄立岩，郭应禄，张志文，1999. Wnt 基因与生物发育和肿瘤发生. 生物化学与生物物理进展，26(2)：117～121

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J. *et al.*, 1994. Molecular Biology of the Cell, 3ed. Garland Publishing, Inc., New York & London, 1255～1294

Alberts, B., bray, D., Johnson, A. *et al.*, 1998. Essential Cell Biology. Garland Publishing, Inc., New York & London, 613～621

Burridge, K. *et al.*, 1983. A New protein of Adhesion Plaques and Ruffling Membrane. J. Cell Biol., 97: 359～367

Gilbert, S. F., 1994. Developmental Biology, 4th ed Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, 349～351; 398～399

Hunter, T., 1991. Cyclins and Cancer. Cell, 66: 1071～1074

Lewin, B. 1997. Gene VI. Oxford University Press, New York, 1131～1172

Smith, A. G. and Hooper, M. L., 1987. Buffalo Rat Liver Cells Produce a Diffusible Activity which Inhibits the differentiation of Murine Embryonal Carcinoma and Embryonic Stem Cells. Devel. Biol., 121: 1～9

Solter, D. And Gearhart, J., 1999. Putting Stem Cells to Work. Science, 283: 1468～1470.

Stewart, C. L. PetrKaspert, L. J., Brunet, H. B. *et al.*, 1992. Blastocyst Implantation Depens on Maternal Expression of Leukemia Inhibitory Factor. Nature, 359: 76～79

Williams, R. L. *et al.* , 1988. Myeloid Leukemia Inhibitory Factor Maintains the Developmental Potential of Embryonic Stem Cells. Nature, 336: 684 ~ 687

Wolpert, L. , Beddington, R. , Brockes, J. *et al.* , 1998. Principles of Development. Current Biology Ltd., London · New York & Oxford University Press, Oxford · New York · Tokyo. 427 ~ 430

Wynford – Thomas, D. And Kipling, D. , 1997. Cancer and the knockout mouse. Nature, 389: 551 ~ 552

第十九章

细胞工程

20 世纪 70 年代以来，随着基础学科和技术学科的飞速进步，大大推动了生产力的发展。这些技术的发展已经为人类创造了巨大的经济效益。有人认为，当前世界正处在一个新的技术革命时期。在这一时期中，微电子技术和生物技术的崛起为技术进步增添了新的特色。它们对今后生产的发展必将发挥越来越明显的作用。1984 年，联合国教科文组织在一份调查报告中指出，"当前科研工作的两大特点，一是各门学科的数学化，二是生物学的飞跃发展。"学者们严肃地预言：21 世纪将是生物学世纪。随着 21 世纪的来临，这一预言正在变成现实。现代生物技术对人类社会的影响日益广泛，在现代科学技术中的地位不断上升。

第一节　生物工程的兴起

20 世纪 70 年代以来，随着一些重要生物技术的发明和基础研究的高度深入，生物学和技术科学相结合而产生了一门新的学科——生物工程(biotechnology)。生物工程是通过技术手段，利用生物体或生物过程生产有经济价值的产品的学科。因此生物工程是基础科学和应用科学相结合的产物。生物工程的兴起，不仅反映出生物学飞跃到一个与过去无法比拟的新水平，而且也反映出人类有效控制生物过程为人类造福的时代已经开始。

生物工程从出现到现在可谓发展迅速，20 世纪 70 年代初期，重组 DNA 技术和杂交瘤技术在生物工程技术中充当着主角，近 10 年来，又出现了以转基因技术为核心的现代生物技术，而几年前才出现的动物克隆技术更是将现代生物技术推上了一个新的技术高峰。

目前，生物工程已深入到人类生产的各个部类，如工业、农业、矿业、化工、医药、食品、能源和环境保护等，生物工业已作为一种新兴的工业体系发展起来。

生物工程所包括的门类极广，从学科领域大家把它归并为四类：

一、遗传工程

遗传工程 (genetic engineering) 又称基因工程，即重组 DNA 技术 (recombinant DNA technique) 的实际应用，它是把在体外重新组合的 DNA 引入到适当的细胞中进行复制和表达。重组 DNA 是由含基因的 DNA 片段同载体 DNA 分子连接组成。所用的载体主要有质粒和温和噬菌体 DNA 等。把重组体 DNA 引入宿主细胞，使其得到表达，便可合成一定的蛋白质。例如，把含有人前胰岛素原(preproinsulin)基因的重组体 DNA 引入大肠杆菌，便在细胞中合成了前胰岛素原。除胰岛素外，人的生长激素、人胸腺激素 a-1、人干扰素、牛生长激素、乙型肝炎病毒抗原和口蹄疫病毒抗原等都可用大肠杆菌发酵生产。大肠杆菌成了一种"工业细菌"。随着研究工作的不断深入，遗传工

程必将在能源、农业、食品工业、化工和药品制造等方面发挥巨大的作用。我国在这方面的研究工作也不断取得进展，中国预防医学中心病毒学研究所和中国科学院上海生物化学研究所合作，于 1985 年研制成功了 α－甲型基因工程干扰素，现已投入生产。这是我国第一个大规模生产的生物工程产品。基因工程乙肝疫苗已于 1992 年批量生产投入使用。此外，基因工程很早就已用于肿瘤学研究，用基因工程手段已发现 40 余种癌基因。重组 DNA 技术还被用于遗传病的基因诊断和基因治疗。总之基因工程药物和基因工程疫苗已在疾病诊断、预防医学和临床治疗中发挥重要作用。

近 10 几年来，基因工程技术中又出现了一个新的领域——蛋白质工程，它是通过改变基因的核苷酸序列以达到改变基因产物——蛋白质的目的。我国科学家不但掌握了蛋白质工程的全套技术，还对胰岛素、尿激酶原、葡萄糖异构化酶等进行了结构及功能的研究，此外还建立了较为系统的分子设计和药物设计相关技术。蛋白质工程具有诱人的前景。

二、细胞工程

细胞工程是在细胞水平上的生物工程。细胞工程所使用的技术主要是细胞培养和细胞融合。通过细胞融合技术发展起来的单克隆抗体技术取得了重大成就，该技术被誉为免疫学中的“革命”。植物细胞培养及细胞杂交技术在植物育种方面成果卓著。细胞工程技术同基因工程技术结合的转基因技术，一跃成为当今世界最活跃的高新技术领域。

三、微生物工程

微生物工程也称发酵工程，它在原有的发酵技术的基础上，又采用了新技术使工艺水平大大提高。现在发酵工程不仅可生产抗生素产品，而且已扩大成了能生产柠檬酸、氨基酸、核酸、酶制剂、甾体激素、单细胞蛋白、部分维生素和生物农药等产品的工业体系。微生物工程在农业上的应用普及很快，运用发酵工程生产的 BT 生物农药已大量生产并投入使用。生物体内储存的能量也可以利用发酵工程技术转变为酒精、沼气等化学能。几年前在农村大力推广的沼气池，就是利用农作物的秸秆、杂草、人和家畜家禽的粪便，隔绝空气并经微生物的发酵作用，使之产生出沼气，用于照明和厨房燃料。此举既利用了农作物废料，又获得了廉价能源。所以说微生物工程在农业上具有投资省、耗能低、见效快和污染小的特点。

四、酶工程

利用分离、提纯的生物酶大规模催化生化反应，生产有用的产品称为酶工程。酶工程在工艺上的重大改革是采用了固定化酶技术，大大提高了反应效率。我国已利用固定氨基酰化酶生产光学活性的氨基酸，收率可达 60% ~70%；固定化 5′－磷酸二酯酶生产 5′－核苷酸。酶工程在发展食品、医药、化工、环保等工业方面有着巨大的潜力。例如，用酶工程技术生产的异淀粉酶、高温 α－淀粉酶是用于食品工业的酶制剂，低温碱性蛋白酶、碱性脂肪酶是化工用酶制剂，纤维素酶、果胶酶是轻化工业用酶。我

国酶工程研究起始于20世纪70年代，但发展迅速，其中一个重大发展是基因工程技术已用于产酶菌种的选育工作。如编码胞内青霉素酰化酶工作已完成中试并向生产过渡。应用酶工程技术还研制了一批临床诊断用的诊断酶、试剂盒、酶电极及诊断测试仪器。

当前投入市场的生物工程产品越来越多，取得了巨大的经济效益。据统计，1990年生物工业产品的世界市场规模达到271亿美元，到21世纪创造的经济价值将更为可观。由于生物工程的迅速发展，引起了世界各国政府的重视，苏联准备建立"生物工程工业部"，日本成立了"生物工业振兴委员会"。我国也设立了"中国生物工程开发中心"，统筹全国生物工程事业的发展。而各种生物公司更是如雨后春笋般出现，中国生物工程的发展已为工业现代化及农业现代化的实现作出了巨大贡献。

本章的重点是讨论细胞工程的主要技术领域。

第二节 细胞工程的主要技术领域

一、细胞培养

细胞培养是生物工程中出现最早的，也是非常重要的一项技术，它在生物学基础研究和生产实践中发挥出越来越大的作用。各种细胞工程技术无不以细胞培养为基础。在生产上，通过细胞培养，可创造很大的经济效益，特别是利用植物细胞培养所获得的经济价值尤为显著。

（一）植物细胞培养与再生植株

植物组织培养技术是将植物的器官、组织或细胞在适当的培养基上进行无菌培养，并重新再生出细胞或植株。植物组织培养最早的报道是1902年Heberlant发表的关于单细胞再生植株的成果。此后，有不少学者在这方面做了大量工作，但进展很慢，这主要是由于当时对植物离体培养的生理、生化、发育等方面缺乏基本数据。直到1939年Gautheret和Nobecourt才成功地确定了胡萝卜培养的营养条件。植物组织培养是进行作物育种的重要手段，如利用植物组织培养方法使植物脱除所感染的病毒和进行快速繁殖，能快速获得大量健康无病毒优质种苗，因此组织培养技术日益受到重视。从广义上来说植物组织包括了植物体所有部分的离体培养形式，如未分化的单个细胞或原生质体，复杂的多细胞以及高度组织化的器官，培养的器官有根、苗、胚、花药、子房和胚珠等。应用花药、子房离体培养再生成新的植株称单倍体育种，我国在单倍体育种方面走在世界前列（图19－1）。

植物细胞组织培养的主要目的是要获得再生植株。根据不完全统计，目前世界上通过细胞组织培养再生成植株的植物有600余种。1981年Gramborg和Shylink报道，有45种作物能通过组织培养再生成植株，其中包括25种农作物、11种树木和9种蔬菜。通过器官培养再生成植株的重要牧草和谷类作物中有：羊茅草、甘蔗、大麦、粟、小麦、燕麦、水稻、高粱和玉米。

植物细胞组织培养应用于生产实践已取得了明显效益，其实际应用大体有如下

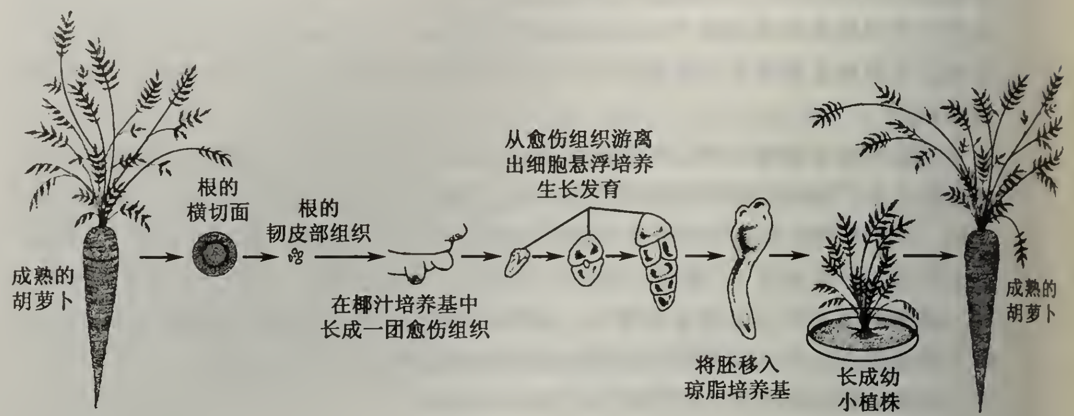


图 19－1　由胡萝卜根韧皮部愈伤组织分离出单个细胞发育成成熟植株图解（自 Gilbert, S. F. 1994）

几方面：

1. 无性繁殖

有性不育或性不亲和性，以及不能进行种子繁殖的植物，适合于选择离体无性繁殖系统。离体无性繁殖的方法已广泛应用于名贵花卉、蔬菜、树木和中草药的繁殖。第一个用无性繁殖方法进行大量繁殖的植物是兰花，20 世纪 70 年代末甚至形成了“兰花工业”。美国建立了几个兰花中心，年产值可达数千万美元。植物组织培养是进行快速繁殖的有效手段。

2. 消除病害

植物细胞组织培养也可用于从感染病毒的植物中获得无毒苗。其方法是把茎尖分生组织接种到琼脂培养基上，从幼嫩的愈伤组织上生出不定芽，继而发育成完整植株。茎尖培养去病毒的方法主要是用于营养繁殖的植物。例如，对感染了马铃薯病毒 X（PVX）的马铃薯进行茎尖和节间外植体培养。从感染 PVX 苗的茎尖愈伤组织得到的植株大约 40% 无 PVX。利用无毒苗繁殖可达到增产的效果。

3. 种质的长期贮藏

植物种质的一般贮藏方法很花劳力和成本。利用种子进行繁殖的植物，在多年更新的过程中，容易造成种质退化和混杂。如果利用组织培养减慢生长速度，则培养物可维持多年而保持活力。如果利用培养组织在液氮温度（－196℃）下保存种质，则贮存的时间可更长。

4. 合成次生代谢产物

有的植物可以合成有价值的化合物，例如长春花的长春新碱（抗癌）、罂粟的海洛因（麻醉）、毛地黄的毛地黄素（强心）。这些产物也可像发酵工业那样利用工业反应器培养植物组织来制取。利用反应器进行植物组织培养，合成次生代谢产物，可以创造很高的经济效益。

(二)原生质体培养

植物细胞脱去细胞壁后而成为原生质体。英国植物生理学家 Cocking 于 1960 年首次用纤维素酶把番茄幼苗根细胞脱壁，得到了原生质体，从而为获得大量原生质体开创了新方法。植物原生质体是没有细胞壁的活细胞，有利于利用实验手段进行细胞杂交、细胞器移植和大分子物质的引入，可以说，原生质体是细胞生物学和分子生物学研究的非常有用的实验材料。原生质体在培养中不能进行细胞分裂，但再生出新的细胞壁后可持续分裂，形成细胞团或愈伤组织，进一步通过不定胚或器官形成，再生出完整植株。所以说，单个原生质体具有正常细胞的全能性，学者们对原生质体的培养给予了极大的重视，原生质体在细胞工程中的应用也越来越广泛。实际上，原生质体培养是植物细胞培养的一种类型，到目前，国内外用原生质体培养成完整植株的已有 100 多种。

由植物细胞组织制取原生质体首先要用酶脱去细胞壁。细胞壁的组成和结构因植物种类、器官类型、生长环境和生理状况不同而有所不同，因此需要酶的种类和数量有所不同(表 19-1)。花粉小孢子的壁除有纤维素外尚有胼胝质，分离时需要加蜗牛酶或胼胝质酶。

表 19-1　酶法分离原生质体的基本数据(国内)(自李文安，1982)

植物名称	细胞来源	愈伤组织传代时间及次数	游离酶种类				
			果胶酶 %	纤酶 %	半纤酶 %	葡萄糖硫酸钾(%)	甘露醇
水稻	花药培养细胞	10~14 天/次，7~8 次	1.5	5.0	—	0.2	0.8mol/L
水稻	花药培养细胞	8 天/次，20 个月	0.6	4.0	0.2	0.2	0.8 mol/L
烟草	单倍体株茎叶	14 天/次，5~6 次	0.8	0.5	0.5	0.2	0.8 mol/L
甘薯	茎蔓	15~20 天/次，半年以上	—	2*	—	—	0.8 mol/L
烟草	茎	15~20 天/次，一年以上	—	2*	—	0.3	0.5 mol/L

* 原作者自制 EA_2-857 纤维素酶

原生质体在培养过程中可很快再生出新壁，有壁的细胞能进行分裂，并经持续分裂形成细胞团，再诱导分化出芽和根以至形成完整的植株。原生质体培养的方法大体上可分为两类，即固体培养法和液体培养法。

1. 固体培养法

将单细胞悬液和融熔的琼脂培养基在 30~35℃下混合浇铺在培养皿中，迅速轻摇使原生质体均匀分布在培养基中，待琼脂冷凝后，细胞即均匀固定在薄层琼脂培养基中。经精心培养，单细胞即可长成小的细胞群落。这种培养法特称为平板培养法。此外，在液体培养基中培养了一段时间的原生质体也可再移到固体培养基中继续培养生长(图 19-2)。



图 19－2　小麦与簇毛麦原生质体融合的杂交细胞琼脂培养形成的再生克隆（夏光敏赠）

2. 液体培养法

将用液体培养基制成的原生质体悬液置于培养皿或 50～100ml 三角瓶中（3～5ml），保持一浅层，封口，在 25～28℃低光强下培养。

为了用材少、生长快和便于进行多滴排列试验，也可采用悬滴法，将原生质体悬液滴入培养皿盖内，每滴 5～10μl 或 100～200μl，每滴间保持一定的距离。培养皿底中放入低于培养液浓度的液体，以防悬滴蒸发。将滴有培养液的培养皿盖仔细翻转过来盖在培养皿上，封口培养，此法亦称悬滴法。

原生质体的分离和培养是获得胞质杂种和植物育种的有效手段，目前，几乎全部重要的粮食、棉花及油作物的原生质体都可以培养成再生植株，为植物转基因育种、体细胞杂交奠定了基础。

（三）动物细胞培养

动物细胞培养是动物细胞工程的一项基本技术，它是细胞融合、细胞拆合、细胞凋亡研究、染色体导入和基因转移等项技术的基础，同时也是医学研究尤其是肿瘤学研究的极其重要的材料。高等动物的体细胞与植物细胞不同，在分化过程中逐渐失去了全能性，因此无法通过体细胞培养产生动物个体。目前，动物细胞培养主要用于通过大量的细胞培养获得有经济价值的生物产品和细胞本身。例如，对肿瘤细胞有细胞毒性作用的 T 淋巴细胞在 T 细胞生长因子（interleukin，IL2）的作用下，可在体外迅速增殖。10^5 个人的细胞毒性 T 细胞用 IL2 培养液培养，两个月后可获得 9.3×10^{13} 个细胞（相当于 90kg 的压积细胞）。细胞培养还可用来进行病毒抗原的制作和疫苗的生产，如制作带状疱疹、水痘，传染性肝炎等疫苗。遗传病的产前诊断也是通过培养胎儿的

羊水细胞并对其进行染色体分析来进行的。最近，科研工作者发现，通过对体外培养的外周血淋巴细胞的染色体分析能从人群中找出易患癌症的人。

哺乳动物细胞结构极为精密复杂，性质脆嫩，对生活环境要求严格，通常是作为一个生活单位在体内的动态平衡环境中生存。虽然动物细胞在培养皿、培养瓶、培养板中可以生长，但在体外利用培养罐进行大量培养就不像培养细菌和酵母那样容易，这一直是细胞培养的一个技术难题。经过生物工程学家的努力，这一问题已经解决，人们在微生物培养用的发酵罐的基础上研制出一种用于哺乳动物细胞培养的反应罐，用以大量培养悬浮细胞。在这个培养罐里有一个振动搅拌器，可以使细胞得到充足的营养和氧气。

动物细胞培养的另一个问题是，为了模仿体内环境条件，利于细胞代谢生长，细胞培养液中通常要加入 5% ~15% 的动物或人的血清，由于血清来源有限，价格高，而且血清的成分复杂难测，每一批血清的成分都有可能不同，这使大量细胞培养受到了限制，培养条件也难以保持一致。因此近年来又出现了一种新的细胞培养方法——无血清培养方法。该法是在基础培养基中添加各种促细胞生长因子、激素等，取代血清，以使培养基成分更加明确。

二、细胞融合

所谓细胞融合是指两个或两个以上的细胞融合成一个细胞的过程。最初细胞融合技术主要是用于核质关系的研究，后来这种技术在实际应用中发挥了很大作用。其中最突出的就是在制作单克隆抗体和植物育种方面的应用。

(一)杂交瘤技术与单克隆抗体

动物受到抗原刺激后可发生免疫反应，产生相应的抗体。这一职能是由 B 淋巴细胞来承担。动物细胞的免疫反应极为复杂，系由多种多样的免疫应答细胞共同反应的结果。一种抗原可具有不同的决定簇，因而可为针对不同决定簇的多种抗体所识别。每一种抗原决定簇又可为多种抗体所识别。例如纯系小鼠，每 1 种抗原决定簇即可为 1000 ~ 8000 种不同的抗体所识别。但在实际工作中只能测出 5 ~ 6 种。1 个 B 淋巴细胞只能产生 1 种抗体。因此要想获得大量纯一的抗体，就必须使一个 B 淋巴细胞大量增殖。可是，在体外培养条件下，1 个 B 淋巴细胞不能无限大量增殖，因此，试图通过培养 1 个 B 淋巴细胞增殖的方法，来制备针对某一特定抗原决定簇的大量单一抗体，实际上是不可能的。单一抗体无论在理论研究上还是在实践应用上都有重要的价值，因而制作大量的单一抗体是摆在学者面前有待解决的课题。

1975 年英国科学家 Milestein 和 Kohler 开创了将产生抗体的单个细胞同瘤细胞融合的技术，解决了上述难题。两位学者因此项发明而获得了 1984 年诺贝尔医学奖。瘤细胞在体外培养条件下可以无限传代，是“永生”的细胞。为了大量制作纯一的单克隆抗体，他们设计的方法是，把小鼠骨髓瘤细胞（由骨髓中的浆细胞转化成的恶性瘤细胞）同经绵羊红细胞免疫过的小鼠脾细胞（B 淋巴细胞）在聚乙二醇或病毒的介导下发生融合。融合的杂交瘤细胞具有两种亲本细胞的特性，一方面可分泌抗绵羊红细胞的抗体，另一方面像瘤细胞一样，可在体外培养条件下或移植到体内无限增

殖，从而分泌大量抗体。Milestein 和 Kohler 所创立的这种杂交瘤技术在免疫学上导致了一场“革命”，学者们纷纷利用这种技术来制造针对不同抗原的高度纯一的单克隆抗体。

B 淋巴细胞杂交瘤技术的主要步骤之一是使骨髓瘤细胞和 B 淋巴细胞融合。可是只有一部分细胞融合成了杂交瘤细胞，因此就必须设法把杂交瘤细胞从未融合的细胞中筛选出来。目前所通用的办法是利用次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶缺陷型（HGPRT－）和胸腺核苷激酶缺陷型（TK－）骨髓瘤细胞株，这两种缺陷型细胞在 HAT 选择培养液中不能存活，而被淘汰。HAT 选择培养液对淋巴细胞无效，但淋巴细胞在培养条件下不能长期存活，因而也被自然淘汰。

HAT 选择培养液是由次黄嘌呤（hypoxanthine）、氨基蝶呤（aminopterin）和胸腺嘧啶核苷（thymidine）3 种成分所组成，3 种成分简称为 HAT。氨基喋呤有阻断 DNA 主要合成途径的作用。在 DNA 主要合成途径中，是由脱氧尿苷酸（dUMP）经甲基化生成脱氧胸苷酸（dTMP）。甲基的供体是四氢叶酸，四氢叶酸去掉甲基后便成为二氢叶酸，在二氢叶酸还原酶的催化下，二氢叶酸又被还原成四氢叶酸，重被利用。氨基喋呤在分子结构上是二氢叶酸的类似物，可同二氢叶酸竞争和二氢叶酸还原酶发生不可逆结合，从而阻断了 DNA 的这条主要合成途径。可是细胞中还存在着一条合成 DNA 的应急途径，当主要合成途径被阻断时，仍可利用次黄嘌呤合成嘌呤核苷酸，利用胸腺嘧啶核苷合成嘧啶核苷酸，从而继续合成 DNA。应急途径的这两种反应分别由次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶（hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase，简称 HGPRT）和胸腺嘧啶核苷激酶（thymidine kinase，简称 TK）所催化。在 HAT 选择培养液中含有次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷，当 DNA 主要合成途径被氨基喋呤阻断时，具有 HGPRT 酶和 TK 酶的细胞便可通过应急途径利用培养液中的次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷合成 DNA。用来制备杂交瘤细胞的骨髓瘤细胞为 HGPRT－和 TK－细胞，不含有 HGPRT 酶和 TK 酶，失去了通过应急途径利用次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷合成 DNA 的能力（图 19-3），而在 HAT 培养液中死亡和淘汰。骨髓瘤细胞和脾细胞融合成的杂交瘤细胞，由于继承了脾细胞合成 HGPRT 酶和 TK 酶的能力，故可在 HAT 培养液中生长存活。这种能长期存活并分泌抗体的杂交细胞，即称为 B 淋巴细胞杂交瘤细胞。杂交瘤细胞通过克隆化培养，形成克隆系。单克隆杂交瘤细胞可在体外培养，从培养液中提取杂交瘤细胞分泌的抗体；亦可接种到小鼠腹腔中繁殖，从腹水或血清中提取杂交瘤细胞分泌的抗体。这种由单一杂交瘤细胞克隆分泌的抗体，在化学结构上极为纯一，是针对特定抗原决定簇的，此即单克隆抗体（monoclonal antibody）。

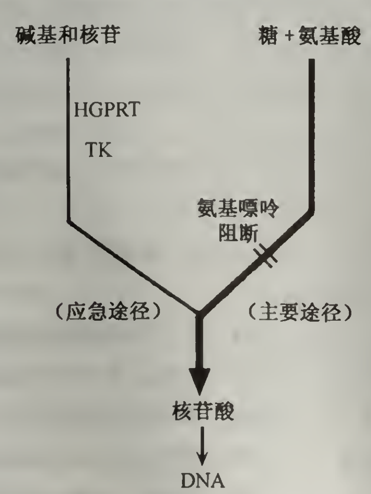


图 19-3　脱氧核糖核苷酸的合成途径示意图
主要合成途径被氨基喋呤阻断时，含有 HGPRT 酶和 TK 酶的细胞仍可通过应急途径合成 DNA

目前所制造的单克隆抗体多为鼠－鼠型。用于形成杂交瘤细胞株的理想骨髓瘤细胞必须能使杂交瘤具有两个基本标准：①生长旺盛；②分泌高浓度的免疫球蛋

白。现在使用效果最佳的小鼠骨髓瘤细胞为 NS-1 细胞系。常用的小鼠为 BALB/c 纯系小鼠。制作单克隆抗体的关键是筛选理想的合乎上述标准的杂交瘤细胞株。制作的基本过程是，首先向 BALB/c 小鼠腹腔中注射特定的抗原进行免疫，在最后一次注射后的第三天杀死动物，取出脾脏，用 RPMI 1640 培养液冲洗，并制成细胞悬液。取悬浮于 GKN 液（由 NaCl、KCl、Na_2HPO_4、NaH_2PO_4、葡萄糖等成分配成）中的 10^8 个脾细胞和 $1\times10^7\sim5\times10^7$ 个瘤细胞混合，离心去掉上清液，迅速向细胞沉淀物中加入 0.5～1.0ml 40%～50% 聚乙二醇(PEG)，静置 1 分钟，随即加稀释液，终止 PEG 的作用。然后在含有小牛血清的 HAT 培养液中进行选择培养。有些实验表明培养时尚须加饲养细胞协助生长。大约 10 天后，取长有足够大的杂交瘤克隆的凹孔上清液，进行抗体滴度检测，把阳性克隆再度重复克隆化，将杂交瘤细胞注入 BALB/c 小鼠腹腔或在体外扩大培养，以收取单克隆抗体(图 19－4)。

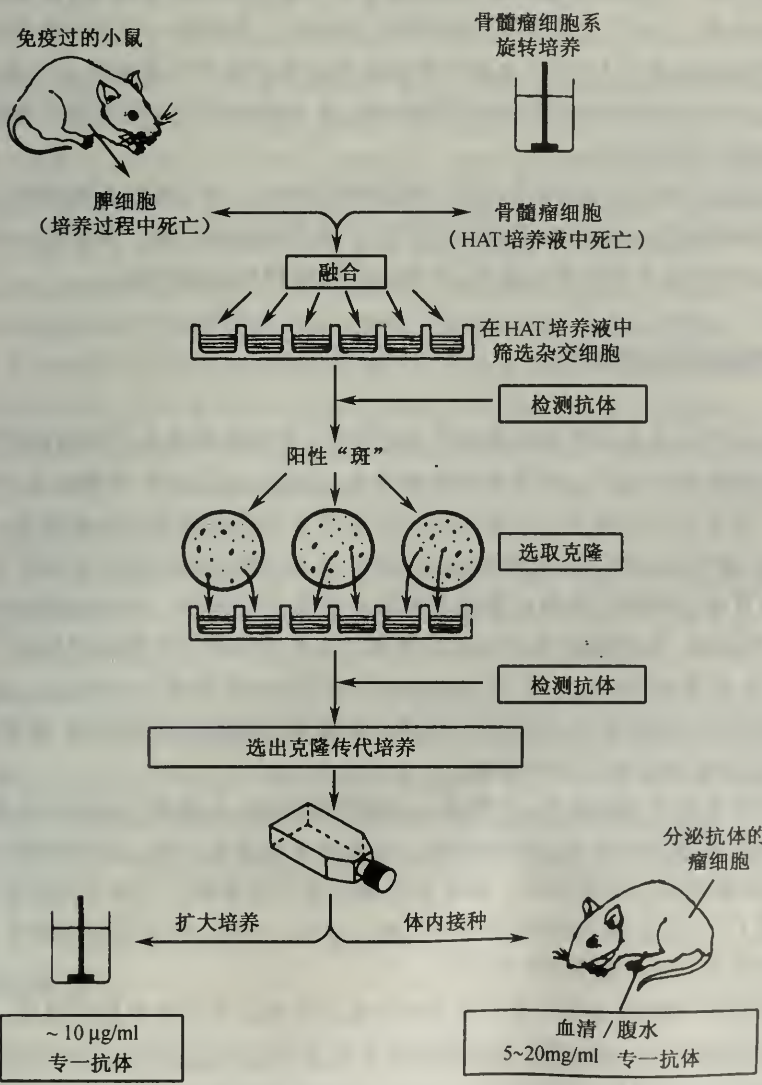


图 19－4 制造单克隆抗体基本过程示意图

杂交瘤细胞系是由 1 个细胞克隆传代而来，只分泌一种单一抗体。建立成功的杂交瘤细胞系可进行悬浮培养生长，也可转移到小鼠体内成为肿瘤生长，以获得含有一定浓度单克隆抗体的培养液、腹水或血清（自 Milstein，C. 1975）

由此可见，单克隆抗体即是单个杂交瘤细胞增殖产生的克隆细胞群分泌的高度纯一的抗体。

单克隆抗体技术的实验成功，不仅在免疫理论上有着重要意义，而且在实践上有着巨大的实用价值，它成了20世纪70年代细胞工程中最卓越的成就。单克隆抗体在医学上的用途十分广泛，抗病毒单克隆抗体已用于临床，例如用于诊断流感病毒类型和狂犬病的治疗。此外，也用于组织相容性抗原(histocompatibility antigen)的分类、寄生虫病的诊断等。单克隆抗体最受重视的用途是在肿瘤诊断和治疗方面的应用。将带有放射性核素标记的探针对某种肿瘤抗原的单克隆抗体注入体内，抗体和肿瘤细胞行专一结合后，即可根据放射性在体内的分布而对肿瘤进行定位诊断。单克隆抗体也可作为载体分子，同抗癌药物或细胞毒素结合，将它们定向运载到肿瘤部位，杀灭癌细胞。这种抗体－药物结合物被称为“生物导弹”，能定位杀灭瘤细胞，避免或减少对正常细胞的伤害，这便大大减轻了抗癌药物的副作用。我国第一个用于肿瘤病人体内导向治疗的单抗药物为1995年由新药审评办通过的肝癌单克隆抗体。另据报道，到1990年已有50%的抗体检查改用单克隆抗体，单克隆抗体以其高度的灵敏性和可靠性得到越来越广泛的使用。

淋巴细胞杂交瘤技术除可用于生产单克隆抗体外，尚可根据其原理将T细胞性的淋巴瘤或胸腺瘤同T淋巴细胞融合，产生T淋巴细胞杂交瘤，分泌均一的淋巴因子。此外，还可利用杂交瘤技术原理，研究生产其他细胞分泌产物。

(二)原生质体融合和植物改良

细胞融合技术首先是在动物细胞中实验成功，此后很快被应用到植物细胞中，而发展为植物细胞杂交技术。所谓植物细胞杂交，实际上是以原生质体融合为基础的，即利用人工的方法把分离的不同品种或不同种的原生质体诱导成融合细胞，然后再经离体培养，诱导分化和再生完整植株的过程。因为体细胞杂交可以使某些不能用常规有性杂交育种的植物之间通过原生质体融合获得杂交植株，而杂交植株兼备两个亲本性状，所以说，体细胞杂交为改良植物遗传性和培养新的作物品种开创了一条新途径。首先获得成功的是美国Garlson于1972年把烟草 *Nicotiana aglauca* 与 *N. longsdorfii* 进行细胞融合，得到双二倍体。细胞杂交的范围已从科间、属间、种间的实验，发展到动植物细胞之间的实验。

植物细胞不同于动物细胞，它带有一层硬的细胞壁，不能进行整体细胞融合。因此欲使植物细胞融合则要先去掉细胞壁。目前多采用酶法去壁，使用的酶为纤维素酶，细胞脱掉壁后成为原生质体。原生质体融合亦可使用聚乙二醇作为融合诱导剂，结合高浓度 Ca^{2+} 和高pH可得到高频率的融合细胞。此外，也可以使用物理方法，如电融合法进行原生质体融合(图19－5)。

原生质体融合的优点在于有可能克服有性杂交的不亲和性和使叶绿体、线粒体等细胞质基因组合在一起。细胞质基因都是母性遗传，而通过原生质体融合可得到染色体外基因的杂合性(heterozygosity)。再有，高等植物的优良性状和特性大多受多基因甚至是连锁基因控制，所以很难通过单基因操作进行基因重组，但是利用原生质体融合技术可以使控制优良性状的基因组转移到希望的植物中。原生质体融合技术配



图 19-5　植物细胞杂交过程(刘玉章制)

利用不同品系的甜菜叶肉细胞进行电融合。图中下方的的黑带系电极。A. 通电后,2 个细胞附着在电极上,B~D. 电极后 2 个细胞逐渐融合为一个细胞

合原生质体培养已得到了一些体细胞杂种植株。例如,亲和能力差的种间植物有烟草+黄花烟草,矮牵牛+拟矮牵牛等;远缘不亲和的属间植物有马铃薯+番茄,油菜+拟南芥菜,胡萝卜+羊角芹,洋金花+颠茄等。这些不同组合的体细胞杂种植物在细胞染色体组,核酸大分子等方面都发生了明显重组。在植物形态上表现出了杂种特性,这就为克服有性杂交不亲和性和改良植物品性建立了一条新途径。

通过原生质体融合得到的一些种间杂种,多数能开花结实,并得到了杂种后代;属间杂种细胞内的染色体数量和结构都发生了变化,植株大都是不育的。然而,近来我国在禾本科植物中已获得属间杂种植株(文后彩图 19-6);科间的原生质体融合只得到了杂种细胞系,还没有得到杂种植株,如大豆+烟草,大豆+水稻等。

原生质体融合还可以产生胞质杂种(cybrid),即其中某一亲本的染色体全部被排斥,但胞质是双亲的。胞质杂种是研究核外遗传的有力手段。也可用这种方法导入外源基因,使之在植株中正常表达。

起初,原生质体融合只限于双子叶植物,近年来,随着禾谷类作物、棉油作物原生质体再生植株的成功,一些重要经济作物的原生质体融合也取得了迅速发展。栽培水稻和野生水稻之间通过原生质体融合已产生了 200 多种杂种植株。虽然原生质体融合技术已经取得了很大进展,但原生质体融合技术还有一些问题有待解决,例如,原生质体融合也分为膜融合和核融合,核融合即牵扯到双亲的染色体亲和性问题,一般来说,亲缘关系越远,其染色体排除和消减现象越严重。如何使远缘不亲合植物间的杂种细胞再生完整植株,如何控制体细胞杂种的染色体组和基因组的稳定性,克服染色体或基因的丢失现象,这些问题的解决必将对农业、食品工业和医药生产的发展产生重大的影响。

三、细胞拆合

真核细胞是由细胞核和细胞质两大部分组成的,细胞的正常生命活动都是在这两部分密切配合下进行的,两部分间有一定的相互关系,为了探明这种相互关系的机制,学者们创建了细胞拆合技术。所谓细胞拆合,就是把核与质分离开来,然后把不同来源的细胞质和细胞核相互配合,形成核质杂交细胞。

根据使用方法的不同细胞拆合可以分为物理和化学两种类型:

(一)物理法

最早使用的核质分离技术是用机械的方法或短波光把细胞核去掉。例如用微玻璃针或微吸管将原生动物或鱼类、两栖类甚至哺乳动物的卵母细胞的细胞核去掉。亦可使用紫外线或激光把细胞核破坏掉,然后用微吸管吸入其他细胞核,再将此核移入去核的细胞质中,组成新的杂交细胞,进行培养实验。

McGrath 和 Solter(1983)又把哺乳动物移核技术作了改进。他们把细胞融合技术同显微外科手术结合起来进行核移植，结果得到了与非手术对照胚胎同样高的存活率。其改进之点主要是,在手术前和手术期间,将小鼠受精卵在细胞松弛素和秋水酰胺中温育;去核微吸管穿过透明带,在近原核处之细胞表面将原核连带少量细胞质一起吸出;将吸有原核核体（包围有质膜的原核）的微吸管再吸取与原核核体大致等量的病毒悬液,病毒事先用羟丙酸 - β - 内酯(2000 ~ 3000HAU/ml)灭活,然后注入去核卵透明带下方的卵周隙中。在 37℃下温育 1 小时,原核核体即与去核合子发生融合。作者用这种方法进行核移植的总效率为 91%。将 64 个发育到桑椹胚或胚泡阶段的胚胎移植到寄母小鼠子宫中,有 15 个发育成幼鼠,其中 7 只长成成体鼠。毛色与核供体小鼠的表型一致,有 5 只具有生殖能力。

这种去核和移核手术很精细,必须在显微镜下用显微操纵仪进行操作,因而选用的材料有一定局限性,一些较小的体细胞,使用这种移核方法则很难奏效。

(二)化学法

细胞松弛素 B(cytochalasin B)有破坏微丝的作用。1967 年 Carter 发现,细胞松弛素 B 能诱发体外培养的小鼠 L 细胞排核。至 20 世纪 70 年代初,Prescott 用细胞松弛素 B 处理哺乳类细胞，并结合离心技术，可将细胞分拆为核体（karyoplast）和胞质体(cytoplast)两部分(图 19-7)。利用这种方法所得的胞质体，纯度可达 90% 以上，1 次处理可获得较大量的胞质体。

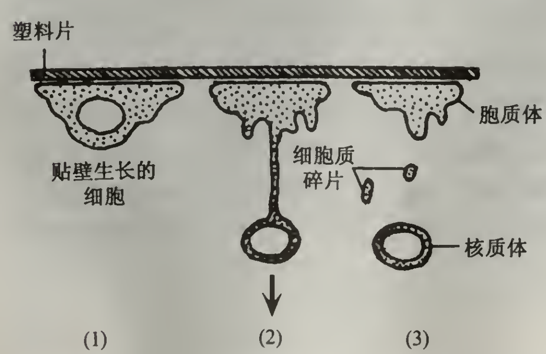


图 19－7　用细胞松弛素 B 处理培养细胞，在离心作用下,细胞分解为核体和胞质体两部分

(1)完整细胞附着在塑料片上;(2)细胞松弛素 B 诱发细胞排核,核经由一细胞质柄和胞质相连;(3)在离心力的作用下,细胞质柄断开,细胞完全分解为核体和胞质体两部分(仿 Ringertz 和 Savage　1976)

由于核体外表包有 1 层细胞膜和少量胞浆，因而也称为小细胞(minicell)。在 PEG 或仙台病毒的介导下，核体可同另一胞质体融合,形成重组细胞(reconstituted cell)。重组细胞亦能合成 RNA 和进行细胞分裂。

为了把重组细胞与未去核的细胞区别开来,应先进行标记。将准备制取核体的细胞,用 ^3H- 嘧啶核苷标记核，用小乳胶粒（直径

0. 5μm) 标记细胞质 (乳胶粒可被吞噬进入细胞质); 将准备制取胞质体的细胞, 用大乳胶粒(1μm)标记细胞质。真正融合的重组细胞,核为 ^{3}H 标记,细胞质中含有大乳胶粒(图 19 - 8)。

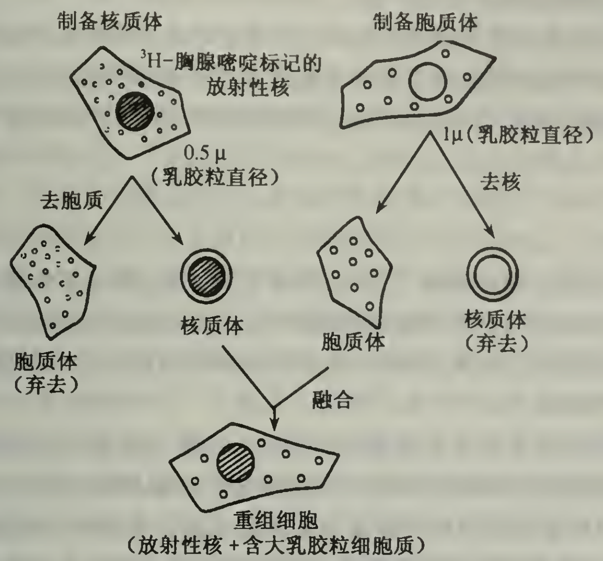


图 19 - 8 用核体和胞质体融合制成重组细胞图解

制取核体的细胞，核用 ^{3}H - 嘧啶核苷标记，细胞质用小乳胶粒标记；制取胞质体的细胞,细胞质用大乳胶粒标记。融合后的重组细胞由含放射性标记的核和含大乳胶粒(直径 1μm)的细胞质组合而成(仿 Prescott 1974)

细胞拆合技术在基础研究方面是一种很有用的手段，利用这种手段证明了细胞核的核酸合成方式和基因表达受细胞质物质的影响。例如,不产生白蛋白的小鼠淋巴细胞同能分泌白蛋白的大鼠肝癌细胞融合所组成的杂交细胞，既能产生大鼠白蛋白，也能产生小鼠白蛋白。

细胞拆合技术已被用于动物育种工作，童第周教授曾用移核方法育成鲤鲫核质杂交鱼,试图选育新品种。目前,各国学者正致力于哺乳动物核移植及克隆动物的研究,有关情况下面再详细介绍。

四、哺乳动物胚胎培养和胚胎移植

哺乳动物胚胎培养技术开始于 20 世纪初，可是由于对各种动物胚胎所需的体外培养液配方不清，致使这方面的工作在上半世纪发展缓慢。在 20 世纪 30 年代和 50 年代只对兔胚的体外培养取得了一些进展。1956 年,美国学者 Whitten 找到了能使小鼠早期胚胎在体外生长发育的培养液配方，从而为哺乳动物体外胚胎培养打开了一条通路。哺乳动物胚胎培养和胚胎移植在现代医学和畜牧业的发展中占有重要地位。近 20 多年来世界许多实验室做了大量工作,发展迅速。

(一)胚胎培养

把受精卵和不同发育时期的早期胚胎取到体外进行培养，不仅是研究胚胎发育机制的重要手段，而且在培育试管婴儿和试管动物方面有着很大的应用价值。哺乳动物胚胎对发育条件要求严格，而且各种动物胚胎所需的营养条件又有所不同，因此无法制定胚胎培养液的通用公式。从已有的实验结果来看，体外胚胎培养有下列几个关键环节：

1. 体外受精

使成熟的卵子在试管内同精子相遇，完成受精过程，称为体外受精。卵子的取得方法有多种，如自然排卵、激素诱发超数排卵(superovulation)、从卵巢手术取卵。人工受精率同卵子成熟度关系极大，卵巢中越接近排卵时间的卵子，受精率越高。未成熟或过熟的卵子受精率低下。

人工受精所用的精子必须是获能(capacitation)的，直接射出或从附睾中取出的精子不能授精。所谓获能即是精子在雌性生殖管道中停留期间，发生了一定的生理、生化和形态变化，从而获得了同卵子结合的能力的过程。在体外，利用卵巢滤泡液、血清、输卵管液、子宫液和人工培养液处理，同样可使精于获能。人工培养液中的丙酮酸钠、乳酸钠和小牛血清白蛋白对小鼠精子的获能影响很大(表 19 – 2)。

表 19 – 2　丙酮酸钠、乳酸钠和小牛血清白蛋白对小鼠精子体外受精力的影响

培　养　液	卵　　数	精子穿入的卵子数(%)
基础培养液	182	0(0)
+ 20mmol/L 乳酸钠	242	20(9)
+ 1mmol/L 丙酮酸钠	219	65(30)
+ 4mg/毫升小牛血清白蛋白	258	143(65)
+ 以上三种成分	330	289(88)

2. 不同时期胚胎的体外发育潜能

受精卵和最早期胚胎较难培养。例如，从猪输卵管中收集到的受精卵，90% 能发育到 2 细胞期，但很少超过 4 细胞期，可是从子宫中收集到的 6 ~ 8 细胞期的胚胎，却有 90% 的可发育到桑椹胚或囊胚。又如牛受精卵，6% 可培养到 8 ~ 12 细胞期；2 细胞期胚胎则有 26% 可发育到 8 ~ 12 细胞期；8 细胞期胚胎则有 51% 可发育到桑椹胚。这种差别不能说明不同时期的胚胎发育能力不同，很可能是由于各时期胚胎所需的发育条件不一样。例如，1956 年 Whitten 最早配制的培养液只能使 8 细胞期鼠胚发育成囊胚。1957 年 Whitten 发现，如果把培养液中加入乳酸钙，则可使 2 细胞胚胎发育到囊胚。1967 年　Whittingham 和 Biggers 又相继发现，小鼠合子在含丙酮酸/乳酸的培养液中很容易分裂到 2 细胞期。后来他们证明，丙酮酸和草酰乙酸是第一次卵裂的单一能源，不必要含有乳酸。

3. 一定的合成培养液

各种动物胚胎对培养液成分要求不同。目前常用于卵细胞培养的有 BMOC－3 液，Whitten 和 Whittingham 液、Han's F_{10}＋20% 小牛血清，SOF 培养液、PBS＋15% 小牛血清、TCM－199 组织培养液等。培养液组成成分对早期胚胎发育至关重要，不同动物种类以及不同发育时期的胚胎对培养液组成成分的要求不同。例如：体外培养的哺乳动物早期胚胎往往存在一个发育阻断（blocks of development）现象，即从受精卵开始的体外培养很难一直发育到囊胚阶段，而是停留在某一时期，无法向下发育。每种动物都有比较固定的阻断时期，如小鼠的 2 细胞阻断（2-cell block），是指小鼠体外培养的受精卵分裂一次成为 2 细胞后，便不再继续分裂，而如果从 2 细胞晚期开始培养则可以发育到囊胚。其他动物如牛的阻断时期为 8～16 细胞时期，猪为 4 细胞时期。针对这一现象，人们首先从改变培养液成分入手，分析阻碍发育的原因，结果发现葡萄糖对小鼠胚胎发育有抑制作用，是造成 2 细胞阻断的原因，于是 Chatot（1988）对 BMOC－2 培养液进行了改良，形成了目前受精卵体外培养普遍采用的 CZB 培养液，它是以谷氨酰氨代替葡萄糖，结果 90% 左右的受精卵发育到 4 细胞时期，2 细胞阻断被克服了。值得注意的是，葡萄糖虽然抑制小鼠胚胎 2 细胞向 4 细胞的发育，但葡萄糖对 4 细胞以后的胚胎发育又是必需的。克服体外发育阻断的另一方法为共同培养（co-culture），是指将胚胎与输卵管上皮或子宫上皮细胞共同培养，以促进胚胎发育。利用共培养技术使猪、牛、羊等克服了体外发育阻断现象。哺乳动物早期胚胎与输卵管上皮或子宫上皮细胞共同培养系统也是研究胚泡着床机制的良好手段。

胚胎对培养液的渗透压也有着严格的要求。小鼠胚对渗透压的要求为 276m Osmol。2～8 细胞期的牛胚，渗透压低于 270m Osmol 时分裂一次的细胞为 57%；高于 300m Osmol 时，则为 26%。

4. 要求一定的气相条件

早期胚胎的培养液需配合一定的气相条件，一般用含 5% CO_2 的空气或 5% O_2 和 90% N_2 的混合气体调节 pH 值。磷酸缓冲液系统的酸度较稳定，气相可用空气。胚胎对培养液酸度变化很敏感，pH 值超出 7.2～7.4 的范围，会引起胚胎死亡。

进行体外培养的哺乳动物胚胎，一般只是着床前的早期胚胎。胚胎着床后，同母体建立了密切的物质交换关系，对营养条件的要求更加复杂。因此对着床后时期的胚胎体外培养更加困难。现在将小鼠胚胎培养时间最长的是 Y. O. Hsu 和 L. T. Chen（1983）把受精后 3.5 天的鼠胚培养到相当于在子宫内正常发育的第 10 天胚胎。胚胎发育经过了原肠胚、神经胚、体节期等阶段，培养到第 10 天时发育出了肢芽、眼泡以及肺、肝、胰等器官，这在哺乳动物胚胎全体外培养的道路上前进了一大步。近年来，国内外均有人实验将小鼠或兔等的胚泡与子宫内膜上皮细胞共培养，建立胚泡着床模型，试图探明哺乳动物胚泡着床的机制。实验中发现孕酮、雌二醇等激素能促进胚泡与子宫内膜上皮细胞之间的黏附率。

（二）胚胎移植

从一头受孕母畜（供体）的生殖管道中取出受精卵或发育到一定时期的早期胚

胎，移植到与供体母畜同步发情的母畜（受体）的生殖管道的一定部位，继续生长、发育，长成子畜的技术称为胚胎移植。在人类中供体和受体妇女在排卵周期同步的情况下，转移受精卵或早期胚胎，在受体体内孕育到期的技术亦称胚胎移植。

最早进行胚胎移植实验的是 Heape(1890)，他把 4 细胞期的安哥拉家兔胚胎移植到一只交配过的比利时野兔体内，生下了 2 只安哥拉小兔，获得了成功。此后，许多学者又对小鼠、绵羊、山羊、猪、牛和马等哺乳动物，以及人胚，进行移植，取得了成功。据统计，至 1980 年世界上通过胚胎移植生出的牛已超过 2 万头。

胚胎移植技术有着重要的实践意义，目前此行业兴旺发达，取得了显著的经济效益。胚胎移植的应用价值主要表现在：

(1)提高良种母畜的繁殖力。1 头母牛（母马）1 年生 1 胎，一生只能生育 10 头左右的仔畜，可是其卵巢中却含有 75 000 个生殖细胞，因此绝大部分卵未被利用。如果利用激素做超数排卵，1 次可排 10 个卵，其中 6～7 个能成为正常胚胎，移植到寄母体内成孕，平均可长成 3～4 个胚。1 头母牛 1 年可做 5 次超数排卵，所以 1 年产仔数可比自然状态增产 15 倍以上。中国科学院遗传研究所和内蒙古三北种羊场 (1975) 合作，使用超数排卵技术，使 1 头 7 岁半的黑色三北羔皮羊一次排 18 个卵。这些卵受精后，移植到白色蒙古羊体内，结果产出了 11 头三北羔皮羊。因此利用这种技术在短期内即可使优良家畜大幅度增加。

(2)1 头母畜 1 次生双胎。牛 1 次成孕，一般只能 1 胎 1 犊，双胎不多见。用胚胎移植可着双胎，繁殖率可扩大 1 倍。

(3)将胚胎分割为二，再结合胚胎移植，造成一卵双胎，使仔畜育成率提高 1 倍。

(4)胚胎性别选择。繁殖奶牛、奶羊可选择雌性胚胎进行移植。

(5)减少精液消耗。利用体外授精法，再进行胚胎移植，精液用量少，可减少良种公畜精液的消耗。

(6)冻存良种胚胎。可把良种家畜的胚胎做超低温冻存，建立“胚胎库”。国际间的家畜贸易，可通过运送冷冻胚胎进行，不必再笨重地运输成体种畜。美国佛罗里达大学(1984)试图利用胚胎移植术把亚洲水牛胚移植到当地乳牛体内孕育，以供肉牛、乳牛用。

(7)保护濒危动物。充分利用濒危动物的卵子，结合胚胎冷冻和人工受精技术，尽可能多的得到濒危动物的胚胎，然后再经胚胎移植技术，提高濒危动物的受孕率，以获得更多的成体动物。

(8)试管婴儿。利用体外受精结合胚胎移植，可以解除人的某些不孕症。因为精子和卵子是在试管中结合受精的，所以这样得到的婴儿又称试管婴儿。1978 年，世界上第一个试管婴儿在英国诞生。目前，世界上出生的试管婴儿已有上万个。近几年，我国在这方面的工作进展也相当快。在医学上应用这种技术还可减少先天遗传病和提高后代的健康素质。

(9)试管动物。同样利用先体外授精再进行胚胎移植技术而孕育出的动物即为试管动物。这项技术已被应用于畜牧业，所用卵子可以是从屠宰场废弃的卵巢中分离获得，其经济效益是显而易见的。

(10)许多细胞工程技术都是以胚胎移植作为最终的步骤，例如嵌和体技术、转基因动物技术以及核移植技术等都是对哺乳动物早期胚胎进行操作的，而要使被操作胚胎变成动物个体，必须通过胚胎移植使被操作胚胎在寄母子宫内发育成熟。

(三)无性繁殖

在生产实践中，要通过有性繁殖方法去保存物种的某一理想表型是非常困难的。可是如果将通过选育获得的新表型，再通过无性生殖方式保存并繁殖(即生产同卵个体无性系)是一条可行的途径，而且很有经济价值。动物与植物不同，不能通过培养体细胞的方式产生个体，但是通过性细胞的单性生殖有可能产生后代。单性生殖在自然界中即存在，不仅有许多无脊椎动物是采取有性繁殖和单性繁殖两种方式交替繁殖，而且在脊椎动物中进行孤雌生殖的也不乏其例，如有些爬行动物、两栖动物和鱼类即是行孤雌生殖。这些动物的孤雌生殖体皆为雌性。火鸡和少数鸡种中也有孤雌生殖的品系，能至少获得一代仔鸡。这是通过单倍体卵二倍体化发育成的。所得到的孤雌生殖体均为雄鸟，因为雄鸟是同配型的。

我们这里所要讨论的无性繁殖是人工单性生殖，以期获得无性繁殖个体。目前，进行人工单性生殖的技术途径有如下几种：

1. 雌核发育

卵子受精后，再将雄原核去掉，使雌原核加倍成纯合二倍体，发育成胚胎后移植到寄母动物体内，发育成纯合二倍体雌性个体。利用这种技术可以快速获得动物纯系。如 3 周即可得到 1 个纯种小鼠，9 个月就可得到 1 头纯合子母牛。有几个实验室在小鼠中使用这种技术已获得成功。

另外一种雌核发育方式是超越卵子的正常发育过程，不受精，只用简单的刺激，即可激发卵子发育。刺激的方法很多，如低温、化学物质和机械刺激等。朱洗等用带红细胞的玻璃针刺蟾蜍卵，少数卵发育成了有生殖力的成体，并得到了没有“外祖父”的蟾蜍。但迄今还没有得到哺乳动物发育到期的单性生殖体，只在小鼠中发育到 24 体节阶段。Hoppe(1982)把单性生殖体细胞核移入去核受精卵中，获得了活仔鼠。

目前，鱼类雌核发育研究相当活跃。因为鱼类精子处理及体外受精都比较容易，所以雌核发育在鱼类上具有很高的经济效益。

2. 同卵多胎

通过显微操作技术把早期胚胎一分为二或多个，然后经移植发育成完全正常的个体。这种技术对优良表型的家畜具有实用价值。胚胎细胞分离技术又包括胚胎分割和卵裂球分离，胚胎分割一般是用不锈钢刀片或微细玻璃针将桑椹胚或囊胚切割成两部分或四部分，每一部分再单独发育成个体。卵裂球分离是将 2 细胞、4 细胞或 8 细胞时期的早期胚胎用胰蛋白酶处理，使细胞之间的连接松散，再用玻璃微吸管将胚胎吹散成单个分裂球，再对每一个分裂球进行单独培养。当然，并非每个分离的单个分裂球都能发育成动物个体。

3. 体细胞核移植

核移植在两栖类和鱼类中已进行大量工作，例如 Gordon 在两栖类中的移核实验和童第周等在鱼类种间的移核实验，都获得了核质杂交后代。然而对哺乳动物来说，由于卵的体积太小，移核技术比较困难。直至 20 世纪 70 年代末才对哺乳动物核移植技术获得成功。Illmensee 和 Hoppe 用小鼠囊胚内细胞团细胞核移入去核受精卵内，发育成了有生育力的小鼠。原来认为，只有内细胞团细胞或稍晚期的胚胎内胚层和外胚

层细胞的核，移植后可发育到期。现在，人们已将成年动物体细胞核移植到去核成熟卵母细胞内，并发育成了完全由供体细胞核决定其遗传性状的动物个体，这就是细胞工程技术的最新进展——克隆动物技术，关于克隆技术后面还要详细介绍。

（四）嵌合体（chimera）

由两个或多个具有不同基因型的胚胎或胚胎和胚胎细胞合并在一起发育成一个完整的个体，称之为嵌合体。嵌合体内不同来源的细胞相互调节、相互作用、共同发育，所以嵌合体个体中的组织器官结构是由不同基因型的细胞群组成。例如，将黑色小鼠与白色小鼠的早期胚胎聚合培养后，将发育成黑白镶嵌毛色的嵌合体小鼠。由于嵌合体中不同来源的胚胎或细胞带有不同的遗传标记，例如毛色、同工酶、基因型等，而这些标记又能在嵌合体发育成的后代中表现出来，通过测定嵌合体成体中这些遗传标记，就可以知道不同来源细胞的发育命运以及发育中细胞间的相互作用，小鼠各组织和器官的发生几乎都是通过嵌合体方式研究的。所以说，哺乳动物嵌合体技术是研究哺乳动物发育遗传和细胞分化的有用手段。这一工作在小鼠中做得较多，Mintz于 1965 年第一次得到了活到成年的正常嵌合体小鼠。

制作哺乳动物嵌合体的方法主要有两种，一种为聚集法，另一种为胚泡注射法。聚集法是指将两个或多个已去掉透明带的早期胚胎，简单地聚合在一起培养成一个嵌合体胚胎的过程。聚集法操作简单，不需要特殊仪器，适用于同种、发育同步的胚胎，Mintz 得到的第一只嵌合体小鼠即是用聚集法制作的。此后不久，Gardner(1968)又创建了利用显微操作仪将细胞注射至胚泡囊胚腔的方法制作嵌合体，注射的细胞既可以是卵裂球，也可以是内细胞团细胞。胚泡注射法可用于种间嵌合体制作，胚胎可处于不同的发育阶段。把发育早期(8 细胞期)的单性生殖体同正常二倍体有性生殖胚胎结合，所产生的嵌合体能发育到期。嵌合体中几乎所有的组织，甚至配子细胞，都来源于单性生殖体的细胞。

起初，嵌合体技术主要用于发育生物学的基础研究。现在随着细胞生物学其他技术的发展，嵌合体技术又有了新的应用，由于 ES 细胞（胚胎干细胞）能参与嵌合体各种组织，尤其是生殖系的形成，所以近年来人们常用胚泡注射法将 ES 细胞注射进囊胚腔以获得嵌合体，用于嵌合体制作的 ES 细胞往往是经过基因突变处理的，这样通过嵌合体个体可以研究突变基因的作用。再有，通过一定方法将某种基因导入 ES 细胞，再用此 ES 细胞制作嵌合体，则可得到转基因动物。事实上，通过 ES 细胞制作嵌合体正是获得转基因动物的一种新途径。

（五）胚胎干细胞

胚胎干细胞（embryonic stem cell, 简称为 ES 细胞）作为细胞工程的一种材料，比其他细胞具有更多的独特优点：

首先 ES 细胞像胚胎细胞一样具有发育多能性，而且可以在体外培养、传代，这样就可以按照人们的意愿对其进行一系列的操作，如外源基因转化、克隆、增殖、冻存、显微注射等。实验证明 ES 细胞注射到囊胚腔后，可参与宿主胚胎的发育，形成正常的胚胎即嵌合体胚胎，不但形成嵌合体效率高和具有分化出各种组织的潜能，而且能形成有功能的生殖细胞。

其次，ES 细胞在不同生长条件下具有不同的功能状态，如在饲养层细胞上 ES 细

胞呈未分化状态(图 19-9),在没有饲养层的条件下或经诱导 ES 细胞可分化成多种细胞,甚至形成胚状体。所以,通过 ES 细胞可以进行细胞分化、组织发生以及基因的表达与调控的研究。

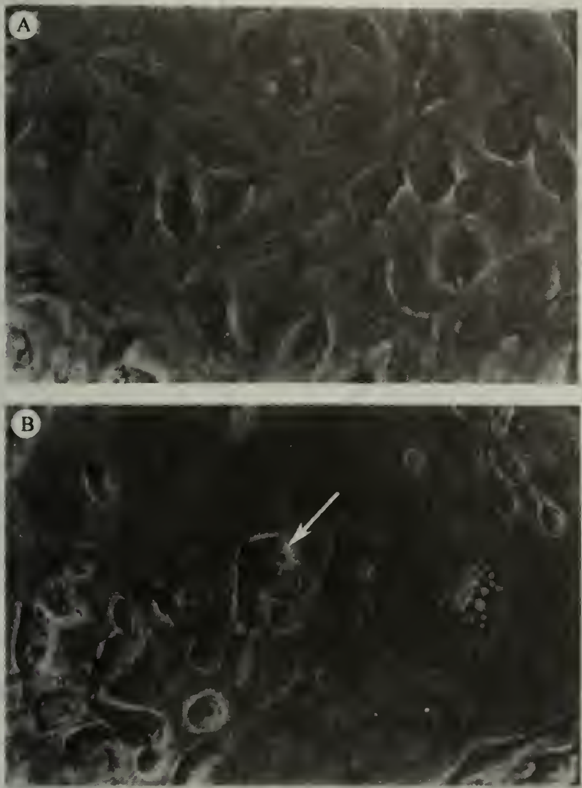


图 19-9 在胚胎干细胞传代前培养 3 天的 STO 饲养层细胞单层(A)和生长在饲养层上 30 小时 ES 细胞(B)的相差显微镜图像

(A)图中的 STO 细胞为小鼠成纤维细胞系;(B)图中的 ES 细胞形成小的克隆(箭头所示)

胚胎干细胞不仅在基础理论研究上是一种很重要的实验材料,而且在实际应用上用途广泛,具有很高的应用价值。因此,ES 细胞技术自 20 世纪 80 年代初建立以来,一直受到越来越广泛的重视。目前,ES 细胞在下列三个方面得到了广泛的应用。

1. 制作转基因动物

在转基因动物技术中,有一种很重要的方法即是胚胎干细胞法。在培养条件下,定向改造 ES 细胞基因组或向基因组中添加一个特定的基因,获得稳定表达的转化细胞后,将其注射到胚泡中,参加内细胞团的发育和分化。胚胎发育成了嵌合体,ES 细胞也能分化出生殖细胞,从而达到改造动物品种的目的。通过 ES 细胞途径生产转基因动物正成为一个很有发展前景的方向(图 19-10)。

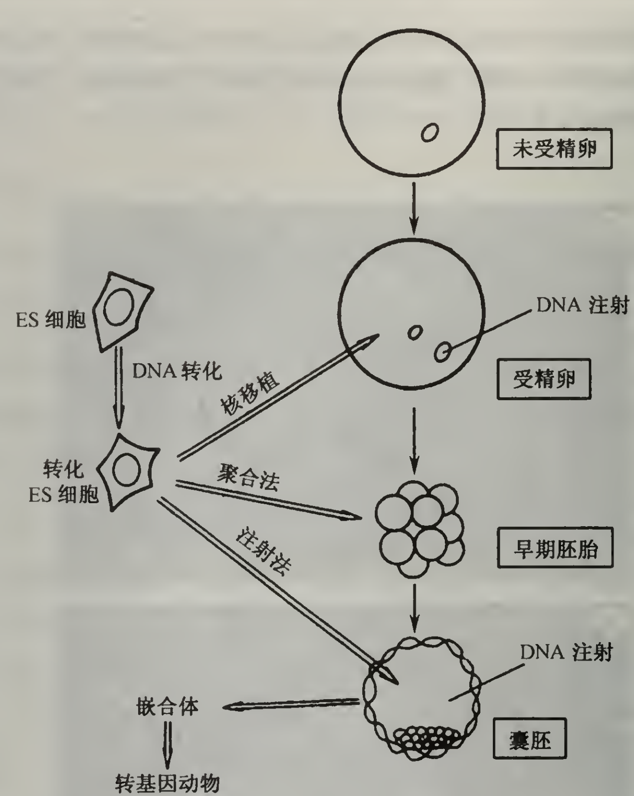


图 19－10　转基因动物的 ES 细胞途径

转化的 ES 细胞可通过核移植产生转基因动物。通过聚合法或注射法产生嵌合体，经过嵌合体的繁育获得转基因动物(自尚克刚　1991)

2. 基因打靶

自从 20 世纪 80 年代末发明了基因敲除 (gene knock-out) 技术以后，胚胎干细胞的应用价值更显重要，所谓的基因敲除又称基因打靶(gene targeting)。打靶 DNA 构建物 (targeting DNA construct) 具有两个基本要点：①除掉为基因主要部分编码的外显子，而代之以新霉素盒(neomycin cassette)(*neo* 基因)，以便通过抗药性和药物敏感性来筛选正确插入靶 DNA 的 ES 细胞；②至少要有 10% 以上的同源 DNA 序列，以获得较好的顶点整合效率。由此可见，它是定向改变胚胎干细胞内的目的基因，使之失活，并根据基因同源重组的原理，将基因失活的 DNA 构建物插入到 ES 细胞基因组的特定位点。然后将这种特定基因失活的胚胎干细胞注射到宿主胚泡中，发育成嵌合体，筛选出目的基因缺陷型纯合子个体，此即为基因敲除动物(图 19－11)。通过检测目的基因突变在个体发育中的时空效应和出现的异常表型，即可确定目的基因的调控功能。利用这种技术可制成针对某种疾病的动物模型，和作为制定基因治疗方案的依据。例如，已制成用于研究血管疾病的载脂蛋白 E(apolipoprotein E, *apoE*)和低密脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)的基因敲除动物。*apoE* 存在于极低密度和高密度脂蛋白中，它是 LDLR 和乳糜微粒受体的配体，在清除血浆脂蛋白方面有重要作用。*apoE* 基因敲除动物已用于研究 *apoE* 基因的结构与功能的关系，高胆固醇血症和动脉粥样硬化形成的分子机制等。目前此项技术需要改进的关键是，如何提高定位敲除目的基因的效率。

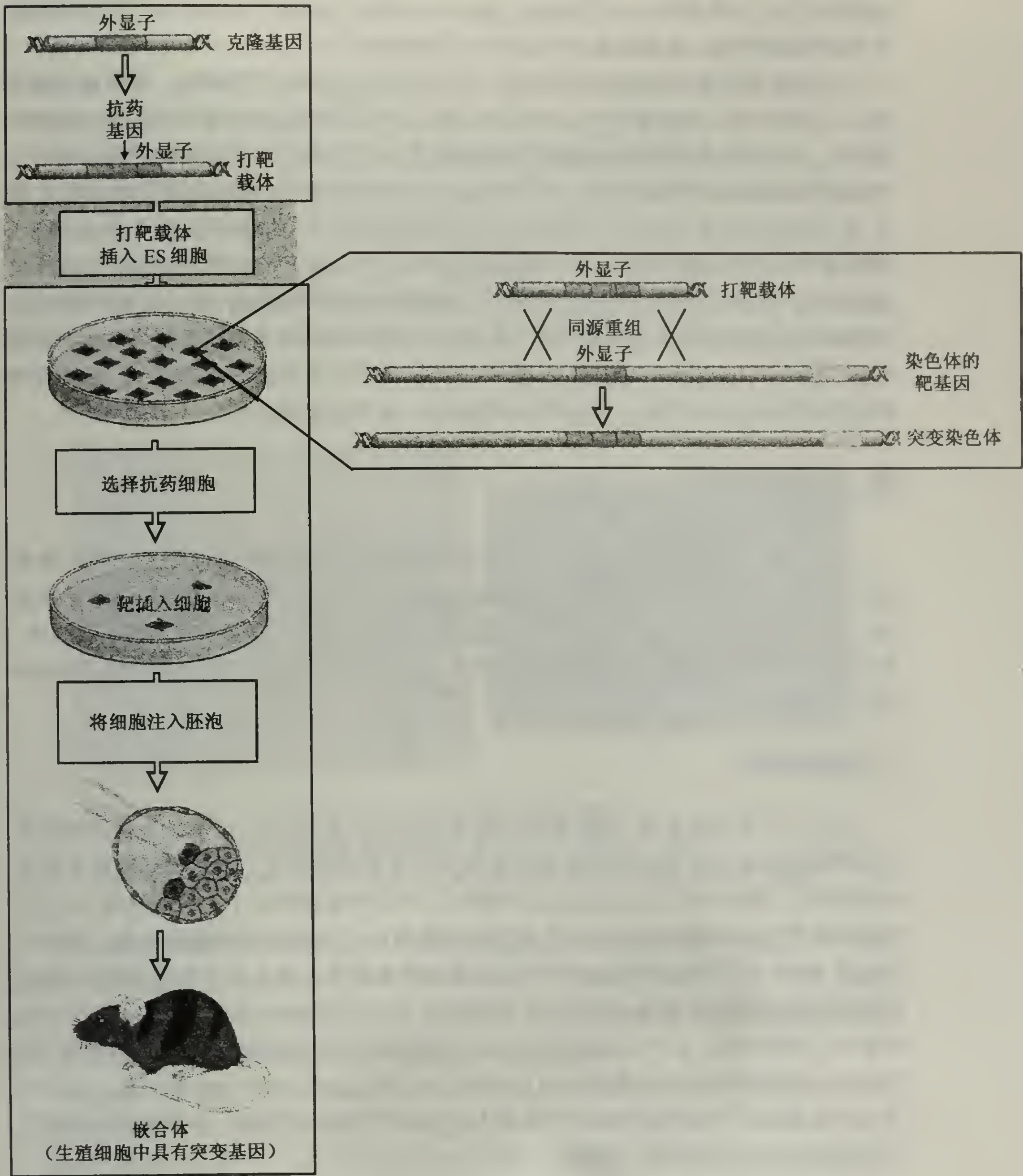


图 19－11　基因打靶实验操作过程示意图

3. 克隆细胞和组织

器官移植是困扰医学临床治疗的一大难题，这不仅是因为存在异体排斥问题，而且还有器官来源匮乏的问题。胚胎干细胞为多能性细胞，具有分化成各种细胞的潜能，包括分化成生殖细胞。正因为 ES 细胞具有这种特点，目前国内外学者正在努力培养人体 ES 细胞系，以利用诱导人体胚胎干细胞定向分化的方法，制作病人所需要的

细胞和组织。如果此项技术获得成功，就可利用细胞克隆技术来修复因疾病而受损伤的人体细胞或器官，这无疑是医学上的一项重大成就。

ES 细胞虽然具有良好的应用价值，但对它的分离培养却非常困难。至今成功建立胚胎干细胞并进行大量研究的动物仅为小鼠。虽然各国都在不断努力试图建立经济动物如猪、牛、羊、兔等家畜的 ES 细胞，但收效甚微，除了猪和兔的 ES 细胞，均尚未得到其他动物稳定的胚胎干细胞。其中关键的问题是还没有找到各种动物各自适宜的培养条件，而适宜的培养条件是胚胎干细胞的培养关键。就小鼠 ES 细胞而言，除了合适的培养基外，还必须有饲养层的存在，饲养层细胞可用贴壁生长的 STO 细胞或小鼠胚胎成纤维细胞制作。如果有饲养层的存在，则 ES 细胞能保持其未分化状态，而一旦离开饲养层，ES 细胞就会生长缓慢并且逐渐分化。这是由于饲养层细胞可分泌一种称为白血病抑制因子（leukemia inhibitory factor, LIF）的生长因子，该因子可抑制 ES 细胞分化，在传代培养过程中保持未分化状态。定向诱导分化也是一项有待突破的技术。

五、转基因技术

把已知基因转移到真核细胞，并整合到基因组中得到稳定表达的技术称为转基因技术。它是改变物种遗传性状的最根本途径。转基因技术是 20 世纪 80 年代初兴起的一项生物高技术，1980 年，Gordon 将克隆的外源基因导入小鼠受精卵的雄原核中，率先获得了转基因动物。目前，转基因技术在动植物方面都有开展，而且正以强劲的势头在发展。

（一）转基因动物

通过人工操作的方式，将外源基因整合到动物的基因组内，使该转基因动物能稳定地将此基因遗传给后代的实验技术就称为转基因动物技术。转基因动物最早最成功的例子是“超级小鼠”（supermouse）的诞生。1982 年底美国 4 个实验室报道，将大白鼠生长激素的结构基因 GH 与金属硫蛋白基因 MT－1 的启动子拼接在一起，组成杂交基因 *MGH*。然后把克隆化 *MGH* 基因用显微注射器注入到小鼠受精卵原核内，将受精卵再移植到假孕母鼠体内发育，结果得到了 7 只带有 *MGH* 基因的小鼠，其中 6 只显著大于同窝小鼠。这些小鼠生长快，74 天时的体重即接近同窝正常小鼠的两倍。有的超级小鼠血清中的生长激素（GH）水平竟达正常小鼠的 100～800 倍。这一成果的意义不仅为遗传工程和遗传疾病（如巨人症）的研究提供了模型，而且也为加速经济动物的生长提供了新的技术途径。

转基因动物技术是一项复杂而且涉及内容广泛的技术，其制作过程大致如下：

（1）基因的克隆、重组技术：要把基因转入宿主细胞，首先要把基因克隆化，然后，给目的基因接上适当的启动子进行重组，以使外源基因有效地整合和表达。目前已经得到了若干真核细胞克隆化基因，如 β－珠蛋白基因，*TK* 基因等。

（2）外源基因的导入：也就是基因转移，利用显微操作或其他方法把外源基因注入到动物早期胚胎中，再把胚胎植入到动物子宫内，发育成的个体不仅能表达注入基因决定的性状，而且能把该基因传到第二代。

（3）外源基因整合与表达的检测：转入的基因一般是随机整合到宿主动物基因组，但并非所有的外源基因都能整合到动物基因组，而整合的基因也并非都能表达。

通过显微注射将外源基因导入后，大部分基因在细胞经过几次分裂后就丢失，只有一少部分 DNA 得以整合。所以，需要对转基因动物进行严格的筛选，目前常用的检测手段是利用 PCR 方法结合 Southern blot 杂交法来检测外源基因是否整合并表达。只有外源基因整合并表达的动物才是真正的转基因动物。

在转基因动物制作中，基因转移是影响外源基因整合效率的十分关键的一个步骤，也是技术难度最大的一个步骤，基因转移需要熟练的操作技术和技巧。目前，基因转移的方法已发展成许多种，其中主要方法如下：

(1) 原核显微注射法：显微注射法是通过显微操作仪将外源基因直接注射到受精卵的原核中，该法是产生最早也是最为有效的转基因方法，目前使用非常广泛。但原核显微注射法技术难度比较大，不仅需要昂贵的仪器，而且需要一定的操作技巧（图 19－12）。

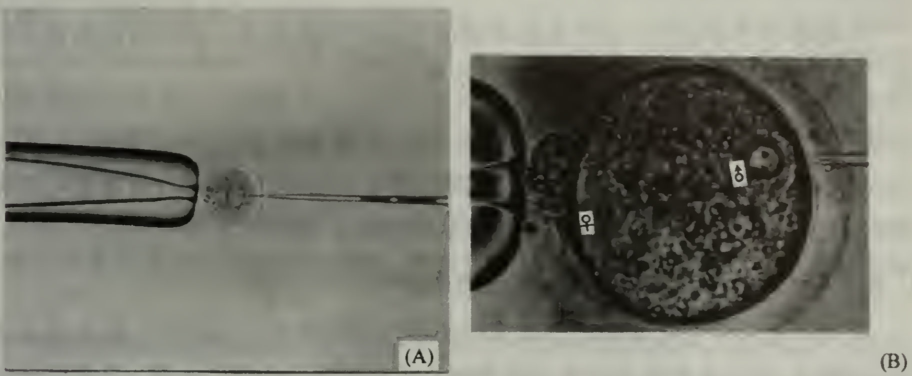


图 19－12　基因原核注入显微图像

(A)注入 DNA 溶解后，雄原核略有扩张（自高士友，韩贻仁　1996）

(B)示雄原核（♂）与雌原核（♀）的相对位置，邻近极体者为雄原核（自 Wagner，T. E. 1981）

(2) 反转录病毒感染胚胎法：将外源基因重组到 DNA 病毒或 RNA 病毒上，再用重组的 DNA 病毒或 RNA 病毒去感染着床前后的胚胎，随着病毒基因插入到宿主胚胎基因组中，外源基因也自然整合到胚胎基因组中。逆转录病毒感染胚胎法是近年来兴起的基因转移方法，操作相对简单而且感染后的整合效率高。

(3)胚胎干细胞法（ES 细胞途径）：前面已经讲过，ES 细胞可以被注射到宿主囊胚中，参与胚胎发育形成嵌合体胚胎。利用这一点，首先将外源基因导入 ES 细胞，再将 ES 细胞注射到宿主囊胚中，参与宿主发育形成转基因动物。由于目前 ES 细胞的研究只有小鼠比较成功，所以用 ES 细胞途径制作的转基因小鼠比较多，而其他如牛羊等大型动物 ES 细胞研究尚未成熟，无法应用 ES 细胞途径进行转基因动物制作。

(4) 精子载体法：将成熟的精子与外源 DNA 进行预培养之后，使精子有能力携带外源基因进入卵子，从而使外源基因整合于宿主基因组中。这种方法也具有简单有效的特点。

基因转移除了上述方法以外，又发展起来一些新的方法，如人工酵母染色体(yeast artificial chromosome, YAC)转基因法、电脉冲法等。YAC 法是以 YAC 作为载体进行基因转移，其优点是可以用 YAC 携带大片段的基因 ($3\times10^5 \sim 15\times10^5$bp)。电脉冲法主要用于鱼类转基因研究，因为有些鱼类的卵壳较硬，而且看不清受精卵原核，

所以用显微注射法进行转基因比较困难，而将鱼的受精卵放入外源基因溶液内，并施以一定的电脉冲，就可得到一定整合率的转基因鱼。

目前转基因动物研究方兴未艾，各国政府纷纷投资开展这项工作，现已建立了转基因小鼠和大鼠，转基因兔、猪、牛、羊等。这不仅因为转基因动物具有重要的理论意义，而且还具有实用价值，能够创造巨大的经济效益。转基因动物的理论和实践意义主要有以下几点：

1. 基因表达与调控的研究

利用外源基因在转基因动物中的特异表达，研究外源基因在动物体内的活动规律，从而弄清真核细胞的基因调控方式。目前，利用转基因动物已进行了组织特异性基因、发育调控基因的表达及增强子的定位研究。

2. 改造动物个体遗传性状

主要应用于畜牧业，通过基因转移改变动物的基因型，达到改良动物品种的目的。如转基因的瘦肉型猪、产奶量高的牛等。

3. 抗病转基因动物育种

先克隆出某种抗病基因，再将此基因转入宿主动物受精卵中，培育出对某种疾病具有抵抗力的转基因动物。这项技术对家禽病的防治很有意义。

4. 制作人类疾病及遗传病的转基因动物模型

将产生某些疾病或遗传病的基因作为外源基因转移，构建出人类遗传病的转基因动物模型，用以研究某些疾病或遗传病的致病机制及治疗方法等。目前已经构建的模型有乙型肝炎和高血压转基因动物模型，β－地中海贫血转基因动物模型是一种遗传病动物模型。

5. 肿瘤发生机制研究及肿瘤预防和治疗方面的应用

将可能激发肿瘤的基因导入小鼠受精卵中，制作出具有肿瘤倾向的肿瘤转基因动物模型，使人们可以在整体水平上系统地研究不同癌基因在细胞分化、增殖中的作用，同时也为肿瘤药物的测试和筛选提供了良好的实验材料。

6. 利用转基因动物作为“生物反应器”生产目的蛋白

动物乳汁中含有大量的蛋白质，实验表明哺乳动物能分泌有生物活性的蛋白质进入乳汁。据此人们研制出外源基因乳腺特异表达的转基因动物，以动物的乳腺组织生产药用蛋白，这种转基因动物的乳腺组织又称为“乳腺生物反应器”。以“乳腺生物反应器”生产药用蛋白能够创造巨大的经济效益，因为一旦转基因动物构建完成，就不再需要大量的资金投入，只需对动物进行常规饲养，虽然动物吃的是草，但它们产生的却是高营养价值或药用价值的蛋白质，如荷兰 Phraming 公司制作的转基因牛能生产人乳铁蛋白和促红细胞生成素，英国爱丁堡 PPL 公司的转基因羊能生产 α－抗胰蛋白酶等，这些蛋白质的价格十分昂贵，以往用基因工程方法进行生产的成本非常高，而且需要复杂的设备。而利用转基因动物方法生产成本每克不到 1 美元，不需要复杂的设备，也不会对动物造成伤害。采用“乳腺生物反应器”生产药用蛋白是一种全新的生产模式，目前世界各国达到商业开发水平的乳腺分泌的药用蛋白已超过 10种，

这一技术正成为生物工程领域的重要发展方向。

(二)转基因植物

将外源基因导入植物细胞,使植物获得新的性状并能稳定遗传,此即是转基因植物技术。植物转基因的目的主要有两方面,一是通过基因转移获得抗病虫害农作物;另一目的是提高农产品产量和品质。目前,植物转基因技术已成为分子育种的新途径,许多有应用价值的基因已导入双子叶植物和单子叶植物,并有少量转基因植物被转到大田应用。有些转基因植物产品已经商品化,如转基因西红柿。植物转基因方法较多,主要包括农杆菌介导的转化、无转化载体引导的裸露 DNA 的直接转化等。

1. 农杆菌介导的转化

植物原生质体培养技术的发展,为把基因导入植物细胞提供了可能性。但这方面工作过去由于没有找到合适的基因载体而受到阻碍。后来发现根瘤农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)中的 Ti 质粒 DNA 可以作为载体,它能整合到植物细胞基因组中,并随植物基因组一起复制。其转化过程是,把目的基因和 Ti 质粒连接成重组体质粒,然后将原生质体和重组体质粒 DNA 在聚乙二醇中温育,再与高浓度的钙离子一起温育,而获得转化体。1984 年,首次利用农杆菌 Ti 质粒将外源基因导入烟草获得成功。1985 年,我国留美学者陈章良,以根瘤农杆菌 Ti 质粒为载体成功地把大豆的一种主要贮藏蛋白基因转移到矮牵牛中,并得到表达,在矮牵牛的种子中检测到这种大豆蛋白。

在转基因植物发展的初期,都是以农杆菌 Ti 质粒作为载体的,农杆菌介导的转化能使外源 DNA 以单拷贝或低拷贝整合到植物基因组上,这样的整合有利于外源基因的表达。农杆菌 Ti 质粒已广泛地应用于双子叶植物的转化工作,但由于单子叶植物缺乏某种激活 Ti 质粒的因子,限制了 Ti 质粒在单子叶植物,尤其是许多重要的禾谷类作物中的应用。

2. 裸露 DNA 的直接转化

基因直接转化是将植物原生质体与裸露的 DNA 分子溶液混合,再以 PEG 或电脉冲处理使外源基因整合到植物细胞的基因组内。裸露 DNA 直接转化法具有不受宿主限制、转化频率高的优点,因而在许多植物中得到应用,其中包括许多重要的粮食作物。

3. 基因枪法

又称粒子轰击法,最早是由美国康奈尔大学的 Klein 等(1987)发明的。该法是将 DNA 与钨粉颗粒混合,再用金属微弹加速轰击植物细胞,火药产生的轰击波将 DNA 射入植物细胞内,最后通过组织培养产生转基因植株。基因枪已于 1990 年商品化出售,基因枪的优点在于可以无级调节,通过改变电压,可以准确地控制粒子速度及射入深度。目前,利用基因枪法已对一些重要经济作物如水稻、小麦等进行了转化。

4. 脂质体法

脂质体(liposomes)是由磷脂组成的膜状结构。脂质体法是将外源 DNA 包装在脂质体内,并与原生质体共同温育,通过脂质体与原生质体的膜融合而使 DNA 转入原生质体中。

5. 花粉管导入法

花粉管导入法是将外源基因直接导入受体植物的花粉管的转基因途径。即在受体植物自体受精一段时间后，将外源 DNA 注入受体的授粉柱头中，使其沿花粉管道进入囊胚，转化受精细胞或早期胚细胞。

利用上述方法，已获得大量的转基因植物新品种，尤其是抗性转基因植物育种方面更是发展迅速，目前通过转基因育种已得到大量具有抗病、抗虫、抗寒等性状的植物。如抗烟草花叶病毒的转基因烟草、抗棉铃虫的转基因棉花等在大田实验中表现出了良好的抗病虫性。抗病虫作物可以减少化学杀虫剂的使用量，从而起到保护益虫和降低环境污染的作用。

六、哺乳动物克隆技术

随着 1997 年 2 月 Nature 杂志报道英国罗斯林研究所 1. wilmut 等人创造的克隆羊多莉诞生，生物工程掀开了新的一页。克隆(clone)一词原意为无性繁殖系，在体外培养的细胞中早有使用，细胞克隆是指由一个细胞经细胞分裂而产生出的一群细胞，而动物克隆是指由一个动物经无性繁殖而产生的遗传性状完全相同的后代个体。克隆羊“多莉”即是将一只成年母羊 Finn Dorset 的完全分化的乳腺上皮细胞的核通过显微操作移入另一只母羊的去核卵母细胞内，再移植到第三只母羊体内发育成熟（文后彩图 19 - 13）。所以说，“多莉”是提供乳腺上皮细胞核的母羊 Finn Dorset 的复制品，遗传结构与它完全一致；同时说明，成年动物完全分化的体细胞核仍然可以重新编程表达。

克隆羊“多莉”诞生后，克隆技术研究立即成为世界各国生物学家竞相开展的生物学高新技术研究。据报道，美国夏威夷大学由 Yanagimachi, R. 领导的科研小组通过核移植技术成功地创建了成年克隆小鼠，所采用的也是完全分化的体细胞核。最近报道，一头用成年公牛（名为机会）的体细胞克隆成功的小牛（取名第二次机会）在美国降生。克隆技术之所以一经产生立即引起高度重视，是因为克隆技术不但具有重要的理论意义而且具有良好的应用前景。克隆动物在畜牧业和医学方面的意义体现在：

(1) 克隆技术能快速培育出大量的优良品种家畜，而用传统的有性生殖方式培育动物良种不但需要花费很长的时间，而且优良性状难以在后代得到控制。

(2) 克隆动物的遗传背景完全一致，因而可以避免动物实验的背景干扰，如用在药物检测上，结果将更加稳定可靠。

(3) 动物克隆技术可以用来保护濒危动物，用濒危动物的冷冻细胞随时可以克隆出新的成体动物，而无须耗费大量的人力物力。

(4) 克隆动物可以为需要组织器官移植的病人提供所需的组织器官，国外已经开始了这方面的研究，科罗拉多大学的研究者用来源于克隆牛胎儿的多巴胺生成细胞治疗帕金森病模型大鼠，已取得一定效果，如果这项技术能成功地应用于人类，无疑将有助于解决异体移植器官来源有限的问题。

(5)动物克隆技术如果与转基因动物技术结合起来将具有更大的发展潜力。有性繁殖方式需要几代才能获得稳定表达外源基因的转基因动物，如果对转基因动物进

行克隆，很快便可获得新的转基因动物，从而提高转基因动物生产效率。

目前，克隆动物主要有胚胎分割和细胞核移植等方法，简介如下。

1. 胚胎分割

将动物早期胚胎经显微操作分割成几部分，每一部分单独发育成个体，得到的后代即为克隆动物，但通过胚胎分割方式得到的克隆动物数量有限。目前此法已开始实际应用，牛、羊等主要经济动物都已通过胚胎分割方法获得克隆动物后代。

2. 胚胎细胞核移植

将不同发育时期胚胎细胞核移植到去核卵母细胞中，重组成新的胚胎并发育成个体(图 19－14)。因为重组胚的细胞核来源于同一胚胎，所以其遗传性状完全一致，即克隆胚。实验表明，桑椹胚时期的细胞核，经显微注射到去核卵母细胞后，仍具有发育全能性。

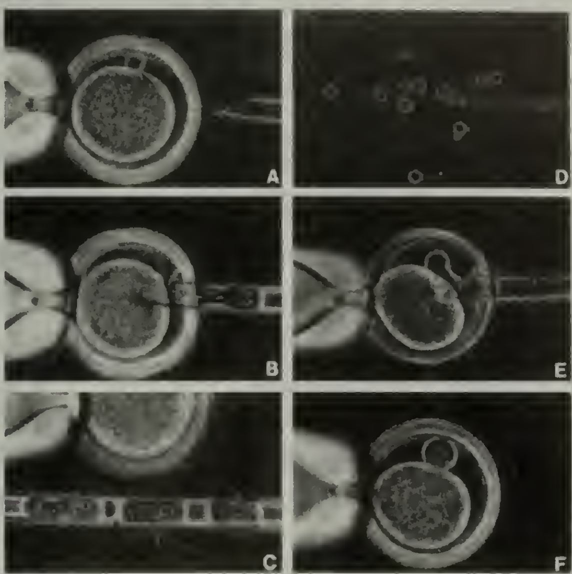


图 19－14 核移植技术操作过程显微图像

A. 带有第一极体(箭头所指)的成熟卵母细胞；B. 用微吸管吸出染色体，染色体被包在有膜包围的细胞质小泡中；C. 示吸入到去核微吸管中的中期Ⅱ细胞板(小箭头)和第一极体(大箭头)；D. 用另一根注射微吸管吸进一个处于 32 细胞阶段胚胎的分散开的裂球(细胞)；E. 将裂球注入到卵母细胞透明带下的围隙中；F. 示去核的受体卵母细胞和与其贴邻的裂球。实际上，吸去染色体的卵母细胞，这时只剩下了细胞质(但不排除仍残留有少量染色质的可能)。注射吸管可先吸入少量 *Sendai* 病毒溶液，可将裂球和病毒溶液一起注入到卵围隙中，在病毒的介导下，卵母细胞与裂球融合，裂球核进入卵母细胞，移核过程完成(自 Collas, p., 1994)

3. 连续细胞核移植

当重组胚胎(第 1 代克隆胚胎)发育成多个细胞的胚胎时，可将此胚胎细胞分散，分散的细胞核可再与其他去核卵母细胞构成重组胚(第 2 代)，如此可得到第 3 代、第 4 代……的克隆胚胎，这就是所谓的连续细胞核移植(serial nuclear transplantation)技术。

4. 体细胞核移植

用成年哺乳动物的体细胞核作为供体，与去核卵母细胞重组成新的胚胎，经培养发育成新的动物个体。按原来的观点，成年动物的体细胞是已经发生不可逆转分化的细胞，但与去核卵母细胞结合后，已分化体细胞的基因组全部重新启动，表现出胚胎干细胞性质，所以利用体细胞核移植技术培育的克隆动物是生命科学的重要突破。

克隆技术还有其他一些需要注意的问题，首先，成熟卵母细胞比受精卵更适宜作核移植受体。其次，到目前为止，能产生克隆动物的体细胞只局限于雌性动物生殖系统的细胞。如克隆羊“多莉”用的是乳腺上皮细胞；克隆鼠用的则是卵丘细胞。供核体细胞所处细胞周期的时期也很重要，G_0 期是核移植的最佳时期。再有，供核动物体的年龄直接影响到克隆动物的寿命。据报道，克隆羊“多莉”出现早衰现象，它的端粒体老化速度超出正常出生的羊，这与供核动物的年龄（6 岁的 Finn Dorset）有着直接关系，因为 6 岁的 Finn Dorset 的体细胞已经过了若干次分裂，再加上取出的乳腺细胞在体外又继续培养了若干代，因而细胞的分裂次数与最高极限的代差要比正常降生的羊少得多。

克隆动物的关键是核移植技术。事实上，核移植技术在两栖类和鱼类早有应用。我国童第周教授在 20 世纪 60 年代时就利用核移植技术培育出不同鱼类品种的核质杂交鱼。核移植技术不仅是研究核质关系的有效手段，而且可以用来培育鱼类新品种。

第三节　国内细胞工程研究方面的简况

自 70 年代末以来，我国在细胞工程研究方面已有相当的发展，取得了不少成果。特别是在植物组织培养和花粉培养方面所取得的成绩尤为显著，花药培养和育种目前在国际上处于领先地位。我国通过花药培养已培养成功 20 多种农作物、林木、蔬菜等花粉植物，其中小麦、玉米、橡胶、杨树、柑橘等 19 种植物的花粉植株系我国首先培育成功。用花培法育成的一些水稻新品种已大面积推广。烟草花药培育的新品种“单育”一、二、三号已推广种植。利用茎尖培养和幼胚培养已获得了无毒马铃薯植株和大量的油菜、小麦、水稻、甘蔗、棉花、油料作物、蔬菜、果树的体细胞植株。其中甘蔗和马铃薯试管苗已推广应用。在原生质体培养和融合方面成果显著，不仅双子叶植物如油菜、烟草、胡萝卜、洋地黄、甘蓝、龙葵、旦茄、曼陀萝、矮牵牛等的原生质体已再生出植株，而且一直难于培养的禾本科主要农作物如水稻、玉米、小麦、甘蔗以及豆科的大豆等，都相继成功地从原生质体中再生出植株。利用原生质体融合已形成远缘不亲和的体细胞杂种植株有烟草 + 矮牵牛、烟草 + 天仙子、烟草 + 拟矮牵牛，形成科间杂种细胞系的有大豆 + 烟草。1999 年，山东大学生物系陈惠民教授和夏光敏教授研究组利用体细胞杂交获得小麦与高冰草的属间杂交植株，并已获得了第三代植株，表现出优良品性，如具有高抗盐性和高蛋白质含量（达 20%），这是一项具有突破性的重大研究成果（文后彩图 19 – 15）。

复旦大学遗传学研究所经过多年努力，于 1986 年利用水稻单细胞培植成了植株，此项突破性成果在学术上和生产上都具有重大意义。该所葛扣麟研究组又于 1987 年利用赤豆叶肉原生质体培养出了植株，这又是一项重大成果。

我国有许多单位已将组织培养技术应用于花卉生产和苗木繁殖。利用大量细胞培养生产次生代谢物质已获成果。南京药学院利用 20L 摇瓶液体培养人参细胞，由 1吨培养液（成本约 100 元）可提取 15L 皂甙，质量接近天然人参产品。

中国科学院上海生物化学研究所研究员周光宇(1986)把外源DNA导入棉花、水稻等植物的技术首次在我国获得成功。把细胞工程和基因工程相结合应用于生物育种方面有着很重要的应用价值。近10年来,我国在转基因植物育种方面又取得了重要进展,我国学者不仅人工合成了苏云金芽孢杆菌Bt杀虫蛋白基因,而且培育出了10余种抗虫转基因棉花。小麦抗病研究中发现了目前抗病性最好的抗白粉病基因,被国际命名为*Pm21*基因,这两项成果均达到国际先进水平。我国已利用转基因技术获得了抗病毒马铃薯和抗黄矮病小麦。

在淋巴细胞杂交瘤技术方面,近几年来也发展很快。至1985年底已研制成功了抗胃癌、抗肺癌、抗乙型肝炎表面抗原、抗疟疾、抗丝虫等47类单克隆抗体。其中,抗乙型肝炎病毒单克隆抗体已投入了临床应用,创造了一定的经济效益。^{131}I-Hab18肝癌单抗用于肝癌病人放射免疫显像诊断,显像率达90.6%。肿瘤定位最小直径为0.5cm,用于导向治疗,疗效为69%。

农用单克隆抗体研究,已研制成马传染性贫血、猪瘟、鸡新城疫、草鱼出血病、马铃薯病毒等一大批单克隆试剂盒,并应用于动植物疫病的快速诊断。

在家畜胚胎移植技术方面,中国科学院遗传研究所、农业科研机构等单位已取得了一些成果。山东省农业科学院在兔胚移植研究方面已初获成功。西北农业大学研究生张涌(1987)、中国农业科学院朱裕鼎领导的课题组(1987年)利用胚胎切割技术繁殖半胚绵羊获得成功。

我国利用移核技术培育新型鱼已获得实际应用成果。中国科学院发育生物学研究所、中国水产科学院长江水产研究所和广西壮族自治区水产研究所等单位,通过细胞核移植技术将荷包红鲤的细胞核和鲫鱼的细胞质组合在一起培育成了新型的鲤鲫移核鱼。此种鱼生长快、质量好,增重速率比亲本荷包红鲤快20%,而且蛋白质含量高,具有一定的经济效益。它们能自交繁殖,并已产生了第二代和第三代群体。此项研究成果已于1986年1月在四川省双流县通过鉴定,说明我国在鱼类远缘核移植技术方面达到了国际先进水平。

特别值得提及的是,中国科学院生殖生物学国家重点实验室以陈大元为首的课题组,1999年将熊猫体细胞核植入家兔的去核卵中,移核卵在体外培养中发育到早期胚胎阶段。熊猫属食肉目动物,家兔属兔形目,如此远缘核质杂交体能发育到囊胚,在世界上尚属首例。此项研究成果被中国科学院院士评选为1999年中国十大科技成果之一。

转基因动物技术被应用于动物育种,我国已获得生长激素的转基因猪200余头,转基因猪的生产水平比非转基因猪高出百分之二十。上海医学遗传研究所利用生物反应器技术获得40头乳腺特异表达外源基因的转基因羊,首批转基因羊乳汁中分泌生长激素的含量已达每升400mg。中国科学院发育生物学研究所和扬州大学的江苏省生物工程重点实验室已建成在乳腺中高效表达促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)转基因山羊50头。

从20世纪80年代开始有一批学者一直致力于ES细胞的研究,中国科学院上海细胞研究所的丛笑倩等在这方面做了大量工作并已建立了自己的ES细胞系,中国科学院生物发育研究所的郑瑞珍以及北京大学生物系的尚克刚等都在ES细胞的分离培养方面作出了杰出的贡献。

在动物组织培养方面,我国的研究成果丰硕。建国以来,迄今已建立了100多个细胞株和系,为生物学和医学基础研究提供了大量的宝贵材料。

从目前情况来看，我国在细胞工程研究领域已建成了许多基地，各种技术门类已初步建立，有些领域已经跨入了国际先进行列。今后的主要任务是向研究的深度发展，把基础研究搞上去，提高研究水平。从总体水平上来看，我国在细胞生物学和生物工程领域同世界先进水平相比虽仍有相当的差距，但在“科教兴国”方针指引下，随着国民经济的发展，这种差距正在逐步缩小。我们在积极学习世界先进科学技术的同时，一定要发扬自力更生、奋发图强的精神。中国人有志气，有能力于不久的将来在学术上跻身于世界先进行列。一个高度文明的中华必将再现！

提　　要

细胞工程是生物工程的一个组成部分，也就是在细胞水平上的生物工程。生物工程是利用生物体和生物过程生产有经济价值的产品的科学。近一二十年来，细胞工程已取得了许多成就。

细胞工程尚无明确的范围界限，但是大体上可包括细胞培养、细胞融合、细胞拆合、胚胎培养和胚胎移植、动植物转基因、动物克隆等技术。

细胞培养是细胞工程中最基本的手段。植物细胞和原生质体培养技术可用于培养再生植株进行育种，也可用于各类植物的快速繁殖。此外，亦能在培养无毒苗、长期贮藏种质和合成次生代谢物质方面发挥作用。植物原生质体培养是植物杂交、转基因植物的基础。动物细胞培养可用于制取许多有应用价值的细胞产品，如 T 细胞生长因子和许多疫苗。

在细胞融合方面最出色的成就是单克隆抗体制作技术，这一技术的成功被誉为免疫学上的革命。该技术是利用骨髓瘤细胞同免疫淋巴细胞杂交，形成杂交瘤细胞，克隆化的杂交瘤细胞分泌高度纯一的单克隆抗体。单克隆抗体具有很高的实用价值，在诊断和治疗疾病方面有着广泛的应用前途。植物体细胞杂交可以使某些不能用常规有性杂交育种的植物之间通过原生质体融合获得杂交植株，而杂交植株兼备两个亲本性状。利用原生质体融合改良遗传性状，已成为改良作物品种的一条新途径。

细胞拆合是通过物理或化学方法将细胞质与细胞核分开，然后再进行异种细胞间的重新组合，重建成新细胞。此技术可用于核质关系的基础研究和育种工作。

胚胎移植技术在哺乳类经济动物中的应用具有重要经济价值。许多哺乳类动物的胚胎培养技术相继突破，为胚胎移植打下了基础。此外像体外受精、超数排卵和胚胎冻存，也是胚胎移植在生产中广泛应用的基本技术。胚胎移植的意义在于，扩大良种繁育能力，减少精液消耗和配合胚胎分割提高繁育率。胚胎移植技术在家畜繁殖中的应用，许多国家已竞相开展。

动植物转基因是改变物种遗传性状的一种技术，利用这种技术创造了“超级小鼠”，转基因动物不但能改变动物的遗传性状，转基因动物乳房生物反应器还能生产具有巨大经济价值的蛋白产品。在植物品种改良方面，转基因植物不但可以改良植物性状、增加作物产量，还可以增加植物的抗病、抗虫、抗逆性能。

哺乳动物克隆技术是最新发展起来的细胞工程技术。动物克隆是指由一个动物经无性繁殖而产生的遗传性状完全相同的后代个体。克隆技术说明成年动物完全分化的体细胞核仍然可以重新编程表达。

我国近 10 几年来，细胞工程研究工作已全面铺开，并不断取得成果，特别是在单克隆抗体技术、原生质体培养、单倍体及转基因植物育种等方面已取得了一批有应用

价值的成果，有的研究工作已跃居世界先进行列。可以预计，今后我国将在细胞工程方面对人类做出更大的贡献。

复习思考题

1. 什么叫生物工程？它包括哪些领域？
2. 杂交瘤和单克隆抗体的制作原理和过程怎样？
3. 原生质体培养和原生质体融合有什么应用价值？
4. 动物细胞培养有什么实际用途？
5. 胚胎移植技术对发展畜牧业有何作用？
6. 动物和植物转基因的方法分别有哪些？
7. 克隆动物有哪些方法？克隆动物的意义表现在哪些方面？
8. 请利用分子细胞生物学原理设计一个可行的细胞工程技术方案。

主要参考文献

陈兰英，方福德，1995. 转基因动物与基因表达调控的研究．生物工程进展，15(5)：34～40

陈秀兰等，1983. 家畜胚胎移植．上海：上海科学技术出版社．

初振辉，秦鹏春等，1994，哺乳动物嵌合体的研究进展及应用前景．生物技术，2：1～6

董志伟，1983. 杂交瘤技术简介．生物化学与生物物理进展，1：50～52

何　维，1994，通过ES细胞途径获得转基因小鼠的新方法．生物工程进展，3：58～59

教育部《生物工程》规划组，1985 生物工程——若干重要领域及发展对策．长沙：湖南科学技术出版社

李文安，1982，植物原生质体培养．细胞生物学杂志，1：1～6

李向辉，1991. 作物体细胞杂交的应用前景．生物工程进展，1：5～9

卢一凡，邓继先等，1997. 转基因动物理论与技术的研究进展．生物技术通报，4：19～25

秦鹏春，谭景和等，1997. 克隆动物进展．生物技术通报，4：14～18，49

潘星华，吴　旻，1998. YAC克隆的筛选及鉴定分析技术．生物工程进展，18(1)：2～9

沈鼎武、陈瑞铭．1979. 细胞拆合研究的一些进展．细胞生物学杂志，2：14～49

翁延年，张树庸，1998. 国内外生物技术发展情况简介．生物工程进展，18(5)：5～10

徐庆毅，1996. 我国生物技术的回顾与展望．生物工程进展，1：1～5

叶　敏，1984. 动物细胞工程的现状和展望．细胞生物学杂志，4：185～188

张德礼，赵陆章，1994. 抗病转基因动物育种的现状和前景．生命的化学，5：27～29

郑国锠，翟中和主编，1990. 细胞生物学进展(第二卷). 北京：高等教育出版社．265～281

郑瑞珍，1994. 胚胎干细胞研究进展．生物工程进展，2：18～27

祝水金，季道藩，1996. 棉花抗虫基因工程进展．生物工程进展，1：36～39

中田和男，1985. 作物抗性育种与生物工程．国外遗传与育种，3：1～10

Abelson, P. H., 1983. 生物工艺学概论．国外遗传与育种，6：1～4

Anderson, W. F. and E. Diacumakos, 1981. 哺乳动物细胞的遗传工程．科学，11：34～44

Avers, C. J., 1984. Sometic cell Hybridization. In: "Genetics", Willard Grant Press, Boston. pp. 424～427

Mantell, S. H. and H. Smith, 1983. Plant Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge.

McGram, J. and D. Solter, 1983. Nuclear Transplantation in the Mouse Embryo by Microsurgery and Cell Fusion, Science, 220: 1300～1302

Sikora, K. and Smedley, H. M., 1984. Monoclonal Antibodies. Blackwell Scientific Publications, 1984, oxford.

Sink, k. c., 原生质体融合与植物改良．国外遗传与育种，6：1～4

Wakayama, T., Perry, A. F. C., Zuccotti, M. *et al.*, 1998, Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. Nature, 394: 369～374

Wilmut, I., Schnieke, A. E., McWhir, J., *et al.*, 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature, 385: 810～813

第二十章

生命起源与细胞进化

生命是物质存在的最高形式。关于生命,迄今还没有一个为学术界所普遍接受的定义。生命所具有的最基本的特征是:自我复制、自我装配和自我调控。在生物界中能够具有这些特征的基本结构单位只有细胞。因而我们可以认为,生命是活细胞的属性。所以,在讨论生命起源时就不能不和细胞联系起来。有细胞结构的产生,才有生命的出现。

根据概率推算,宇宙间可能有亿万个星球存在着生命。但迄今除了我们的故乡地球外,只有月亮有过人的足迹,其他一切星球,我们都没有直接探察过。根据目前掌握的资料,太阳系各行星除地球外,还未发现有生命的存在。至于其他宇宙星系是否有生命可暂置不论,我们先来研究一下地球上的生命起源。

第一节　化学进化与生命起源

目前,学者们普遍接受的关于生命起源的学说是唯物主义学说。这一学说是苏联生物学家 A. E. Опарин 在 1924 年首先提出来的。几年后,英国生物学家 J. B. S. Holdane 也提出了这一学说。这一学说认为,最简单的生命有机体是由非生命物质通过化学进化的渐变过程产生的。因此,最早的生命有机体的发生可以看做是有机物长期连续进化的结果。

地球大约是在 50 亿年前形成的,有机物的进化可能和地球的演化一同进行。原始地球的大气是还原性的,也就是说不含游离的氧。主要是由甲烷、氨、氢和水蒸气以及少量其他气体组成。这些气体利用了前寒武纪环境中有效的能源形成了简单的有机化合物,这些能源包括有太阳的紫外线、雷雨放电以及火山活动放出的热。当简单的有机化合物集中到原始海洋中时,就形成了复杂的化学物质。这些物质组成疏松的组织结构,逐渐获得了自我复制能力,最后进化成了最早的细胞系统。至此便标志着生物进化开始了,继而逐渐进化出了更为复杂的生命有机体。这一学说能为广大学者所接受,从这一学说我们可以认识到生命起源和细胞的进化实际上是同一过程的两个阶段,即化学进化和生物进化(图 20-1)。

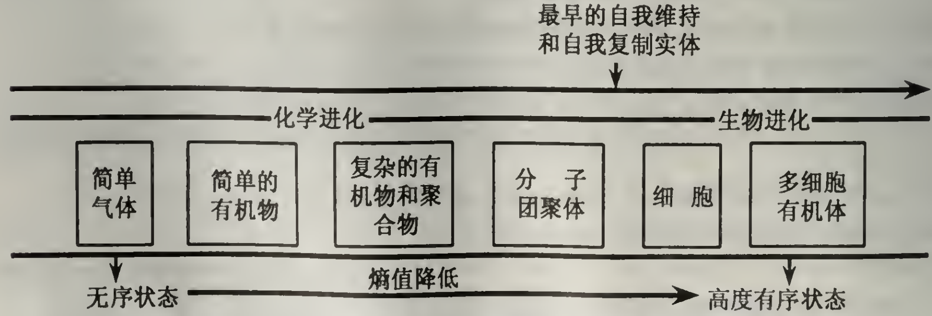


图 20-1　化学进化和生物进化过程示意图(仿 De Witt　1977)

在原始地球上，原始大气中有部分气体逃离了地球，所剩下的气体构成了次生大气，其中含有 H_2、N_2、NH_3、H_2O、CH_4、CO、CO_2、和 H_2S，但不含游离的氧，故原始大气是还原性的。这些物质在有适当的能源条件下，有可能进行有机物的合成。这些能源包括有太阳的紫外线、放电、火山热、宇宙射线、放射性同位素产生的高能粒子和热，以及彗星、陨石同地球大气层碰撞所产生的冲击波。

在细胞的化学组成中，主要为四大类有机化合物：即蛋白质、核酸、多糖和脂类。这四类化合物是怎样进化产生的呢？这是大家非常关心的问题。蛋白质、核酸、脂类和糖类，除脂类外都可由简单构件组成大分子。要研究这些有机物是怎样产生的，首先得研究这些大分子的简单构件是怎样产生的。在这方面所获得的资料主要是靠模拟原始地球条件，从实验室中得来的。这些资料为我们勾画出了在原始地球上化学进化的可能轮廓。

模拟原始地球条件合成有机物的实验，最出色的要算是 S. Miller 的氨基酸合成实验。为了进行这项实验，他设计了一套玻璃仪器装置（图 20－2）。按原始地球大气的组成，将 H_2、CH_4 和 NH_3 依 1∶1∶2 的比例，通过活塞输入到仪器中去（严防空气混入）。随即把烧瓶的水煮沸，蒸汽顺时针方向在仪器中循环。球形的电火花室中的钨电极相距 1cm，外接高频线圈，使电极连续火花放电。在蒸汽推动混合气体穿过火花电极时，产生了非挥发性产物，在电火花室下方有一冷凝装置，蒸汽在此处冷凝，那些非挥发性的气体便被洗入洗脱管中，流入并贮留在烧瓶中。而那些挥发性的气体则可穿过洗脱管继续参加循环。

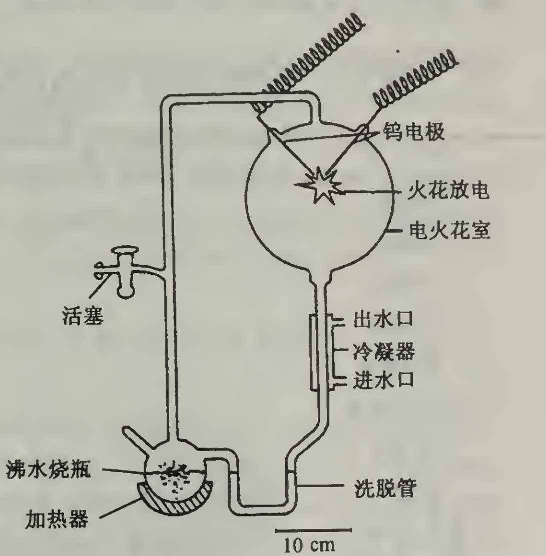
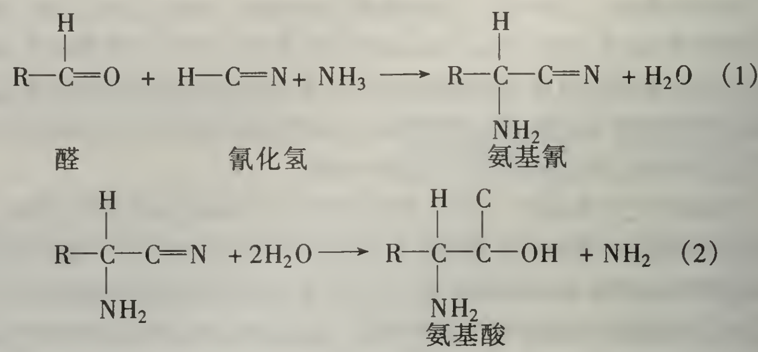


图 20－2　S. Miller 模拟原始地球条件而设计的火花放电装置

这一套装置的设计思路，是尽可能模拟原始地球的类似条件和化学进化早期阶段的变化过程。火花放电为化学合成提供了能量，不含氧的还原性混合气体是模拟原始大气的组成。烧瓶中的水不断产生蒸汽相当于原始海洋的蒸发现象，而且水还可不断消除非挥发性产物，使其避开高能源，防止了分解。这类似于原始大气层经闪电作用合成的有机物，随雨水被冲洗到原始海洋中。实验进行了一周，然后将洗脱的产物进行分析，所得到的产物列于表 20-1。使 S. Miller 惊喜的是，所得到的产物，全部是组成生命有机体的重要化合物。后来 S. Miller 还注意探索了氨基酸产生的过程。他发现在实验的 30 个小时内，合成了大量的氰化氢和醛，在 110 个小时之内，氰化氢和醛都保持在高浓度，随后迅速下降，而氨基酸的总量在 5 天内都稳定上升，5 天后就稳定在这个水平上。可见，HON 和醛是中间产物，当它们和 NH_3 一起转化成更复杂的产物时，必然就在装置中消失了。这种反应是这样的：



S. Miller 的实验在研究化学进化方面起了很大的推动作用。此后有许多学者都做了这方面的实验，也一致证明，利用各种能源都可从还原性的简单气体混合物产生氨基酸。S. Miller 等的氨基酸生成模拟实验是否真正反映了原始地球上的变化呢？最近一二十年来所获得的宇宙资料支持了 S. Miller 实验的真实性。在宇宙尘埃中发现有 HCN、甲醛、乙醛、氰乙炔和许多简单的有机物。此外，在陨石中也发现了许多种氨基酸。根据这些从地球以外获得的资料来看，这些物质可能来源于非生物，从而进一步

表 20-1　S.Miller 实验中 H_2、CH_4、NH_3、H_2O 通过放电合成有机化合物的产量

（摩尔量 × 10^6）

产　物	火花放电	无声放电	火花放电（N_2 代替 NH_3）
甘氨酸	63	85	14.2
丙氨酸	34	9	1.0
肌氨酸	5	86	1.5
β-丙氨酸	15	4	7.0
α-氨基酪酸	5	1	—
N-甲基丙氨酸	1	12.5	—
天冬氨酸	0.4	0.2	0.3
谷氨酸	0.6	0.5	0.5
亚氨二醋酸	5.5	0.3	3.9
亚氨醋酸-丙酸	1.5	—	—
甲酸	233	149	135
醋酸	15.2	135	41
丙酸	12.6	19	22
戊二酸	56	28	32
乳酸	31	4.3	1.5
α-羟基酪酸	5	1	—
琥珀酸	3.8	—	2
尿酸	2	—	2
甲酸	1.5	—	0.5
以上产物占有机物总产量的百分数	15%	3%	8%

证明了在原始地球化学进化早期阶段可能发生过的过程。也就是说,化学进化过程不仅发生在原始地球上,而且在宇宙中也会发生类似过程。

此外也有大量实验证明,在原始地球上不仅可生成简单的小有机分子,而且还可以从这些简单的化合物合成更为复杂的有机化合物。

S. Fox 在氨基酸聚合成多肽方面做了大量工作,他的最典型的一个实验,是把 18 种氨基酸的干混合物(天冬氨酸 2 份;谷氨酸 2 份;其他 16 种氨基酸等 mole 混合物 1 份)在无氧条件下,保持在 170℃下加热 6 小时,结果得到了少量的氨基酸聚合物和焦油以及其他有机物, Fox 把这种氨基酸聚合物命名为类蛋白 (proteinoid), 以区别于生物合成的蛋白质。这种由 18 种氨基酸聚合成的类蛋白具有以下特点:① 18 种氨基酸都有; ②具有分子内肽键和二硫键; ③ Mr 为 3000 ~ 10 000, 比大多数生物蛋白质分子小;④溶解度和蛋白质相似;⑤很易为蛋白质水解酶(proteolytic enzyme)所消化;⑥略具有催化活性。此外,经过分析,类蛋白中所含的各种氨基酸的量与原混合物的含量不成比例,说明各种氨基酸聚合成类蛋白不是随机性的。

有人还发现,氧化锌凝胶可和酸性类蛋白形成复合物,这种含锌类蛋白具有水解 ATP 的催化活性,其催化部位就是在锌结合到类蛋白的部位上。大家推想,这种含锌类型的结合,很可能是金属酶进化的第一步。

Fox 的模拟实验,是用氨基酸的干混合物。如果原始地球上也发生这样类似的过程,那么必须是无水环境中。Fox 认为原始地球的火山附近可能具备这种条件。但也有人不同意 Fox 的意见,认为火山地区很狭窄,能使氨基酸缩合的条件极为有限。

此外,也有许多模拟实验成功地合成了核苷、核苷酸、多核苷酸、单糖、多糖等,但脂类的模拟合成至今尚未得到满意的结果。这些模拟实验有力地说明,在原始地球的环境条件下,有可能通过化学进化的途径产生组成生命的各种复杂有机物。

第二节　生物大分子进化的可能途径

现代分子生物学阐明, 核酸、蛋白质是生命的主要组成部分, 其中核酸是贮存和传递遗传信息的分子,而蛋白质是执行功能的分子。只有当核酸 - 蛋白质系统获得信息贮存、自我复制、变异以及在选择下适应进化的能力时,才可能出现生命。德国物理学家 Eigen(1979) 在分子遗传学成就的基础上提出"超循环论"——生命系统自组织和进化的原理, 为生命起源和进化提供了一个理论框架。自从 20 世纪 50 年代 Crick 提出"中心法则"之后,学术界一般认为,生命的化学进化是沿 DNA→RNA→蛋白质的顺序进行的。DNA 分子既是遗传信息的载体,又能进行自我复制,理所当然 DNA 分子应当是生命大分子进化的起点。然而,在前生命化学进化过程中,究竟先有核酸还是先有蛋白质,仍然是一个悬而未决的"蛋鸡悖论"。目前,关于生命的化学进化问题,有两种较盛行的观点:RNA 世界说与核酸和蛋白质共起源学说。

(一)RNA 世界假说

1982 年 Cech 发现四膜虫的 rRNA 前体可自我剪接成为成熟的 rRNA。随后,RNA 具有催化性能的现象得到了许多实验的证实。Gilbert 于 1986 年提出了生命起源的 RNA 世界说。他认为,RNA 分子的自我催化复制构成了进化的第一步,复制过程中依

靠内含子介导的重组以及突变产生新的功能以适应外界环境。

1986 年，Cech 证明，rRNA 插入序列不仅有催化 rRNA 前体的自我剪接反应，而且还具有核苷酸转移酶、磷酸二酯酶、RNA 限制性内切酶、磷酸转移酶和磷酸酯酶等多种活性。1989 年，Uhlenbeck 实验室人工合成了具有催化活性的由 19 个核苷酸组成的寡核糖核苷酸。同年，Szostak 和 Cech 报道了有关 RNA 能催化自身复制的研究。1992 年，Jorce 等建立了四膜虫 RNA 催化剂（ribozyme）的进化体系并通过“试管进化”得到了对 DNA 有剪接作用的 RNA 催化剂变异体。1994 年，同样利用试管进化方法使 RNA 催化剂获得了 ATPase 活性及多聚核苷酸激酶活性。另外，RNA 催化剂还具有氨基酸酯酶、氨酰 tRNA 合成酶和肽基转移酶活性，这些反应均与蛋白质合成有关。

根据上述实验结果推论，生命进化似乎遵循以下的进化路线：原始地球上存在的小分子物质经过一系列的化学进化形成一种 RNA 催化剂自我催化系统。RNA 催化剂不仅催化自身的复制，还会催化环境中其他分子的复制，某些 RNA 可能结合氨基酸而作为原始 tRNA。某些 RNA 可能促进邻近两个 tRNA 的结合而在 RNA 模板上催化肽键的形成。通过某种机制 RNA 催化剂结合上了氨基酸而合成了最初的蛋白质，这些蛋白质比起像 RNA 这类分子具有更大的催化动力，从而催化产生更多的 RNA 催化剂副本。在由达尔文式的分子水平的适应性选择和 RNA 分子的突变中（适应性主要是随机产生的但也不排除定向突变的存在），核糖在第二位脱氧生成脱氧核糖。由于这一变化，DNA 有比 RNA 更强的稳定性。经过一代又一代的调整，遗传信息就由 DNA 承载，性状由蛋白质体现，RNA 起着遗传信息表达的中介作用。

（二）基于磷酰化氨基酸的核酸和蛋白质共起源学说

清华大学生命有机磷化学实验室赵毓芬院士经过近 20 年研究，提出了基于磷酰化氨基酸的核酸和蛋白质共起源学说。考虑到氨基酸是在前生命化学进化中的关键分子，而磷对现存生命活动和调控起中心作用。通过一系列的实验，她发现由双烷基磷酰基（dialkyl phosphoryl group, DAP）和氨基酸（AA）组成的磷酰化氨基酸（DAP-AA）能在常温下自我装配成寡肽，并且在有核苷存在时，DAP-AA 还能使核苷装配成寡核苷酸。在核酸和蛋白质合成中，DAP-AA 既作为能源，又作为磷酰基供体，并通过它的媒介把蛋白质合成与核酸合成偶联起来（图 20－3）。一方面，DAP-AA 与氨基酸逐次反应形成寡肽；另一方面，与核苷逐次反应形成寡核苷酸，一侧的反应产物为另一侧利用，从而形成一个核酸合成和蛋白质合成相偶联，物质交换和能量交换上自循环的体系。在这一循环体系中，磷酰化氨基酸分子起着多种“原始酶”（转肽酶、连接酶等）作用。

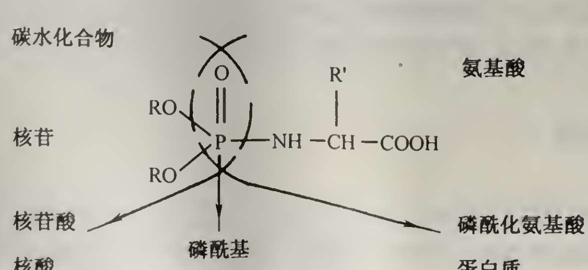


图 20－3　N－磷酰化氨基酸介导的寡核苷酸和寡肽合成的偶联（自赵毓芬　1996）

1997 年以“活性氨基酸研究进展和展望”为主题的第 89 次香山学术讨论会上，赵毓芬在“磷酰化氨基酸与化学进化学说”的报告中，以大量实验事实阐明，磷酰化氨基酸系统具有自组装特性，可以定向组装成多肽、多核苷酸，表现出各种“原始酶”（连接酶、转肽酶、RNase、DNase 等）特性，还可以组装成生物膜。中国科学院上海细胞生物学研究所王亚辉认为，N－磷酰化氨基酸系统表现了自复制、生长、选择条件下适应进化能力，是适合 Eigen“超循环”理论框架的最简单的进化模型。

第三节　分子构成形态实体

一、分子团聚物

具有生命现象的形态实体是怎样形成的？有些学者提出了分子团聚物（molecular aggregates）的主张，其中最有代表性的是 Опарин 学派的团聚体学说和 Fox 的微球学说。

（一）团聚体学说（coacervate theory）

这一学说主张，在原始海洋中首先产生团聚体这样的形态实体，而形成具有独立相的开放系统，与周围环境相互作用。Опарин 实验室的许多工作支持了这种见解。

我们知道，溶解在水中的高分子物质，在一定浓度、温度和 pH 条件下，可聚集成黏液滴，这种黏液滴称为团聚体小滴（图 20－4）。团聚体小滴的直径一般为 0.5～64μm，外包一水合层。当外面水合层减少，大分子小滴便可彼此连接起来形成团聚体（图 20-5）。例如，在油酸水溶液中逐渐增加盐（如 NaCl）的浓度，盐离子便同脂肪酸分子争夺溶剂分子，使脂肪酸和溶剂分子间的相互作用减弱，结果形成了脂肪酸团聚体。

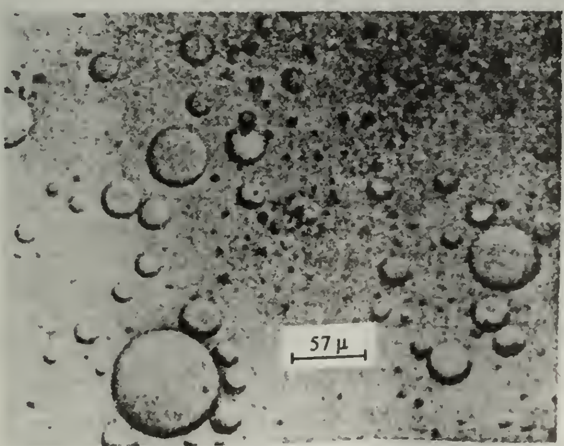


图 20－4　用白明胶（蛋白质）和阿拉伯树胶（多糖）制成的团聚体小滴（自 Опарин, A. I. 1968）

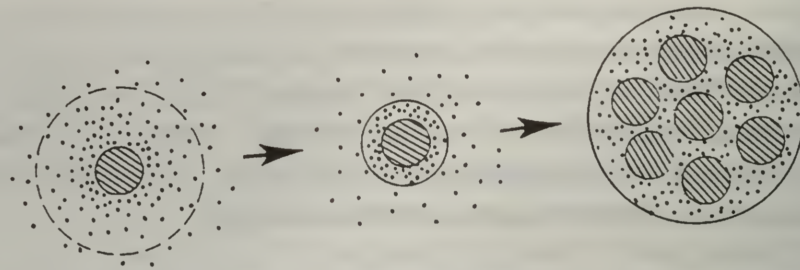


图 20－5　团聚体形成图解，小黑点为水分子，带斜线的圆为大分子（自 Bungenberg, H. G.　1949）

许多学者用蛋白质、核酸、多糖、脂类、卟啉等有生物意义的有机化合物制造团聚体，并对其性质进行了研究。发现团聚体具有以下几种属性：

（1）选择吸收：不同性质的团聚体小滴能从环境中有选择地吸收某些物质。例如用白明胶和阿拉伯树胶制成的团聚体，可选择吸收中性红、甲基蓝等染料，浓缩的浓度可达周围环境中的数倍。奥巴林制作的有一种团聚体，可把酪氨酸浓集成比介质中的浓度高 100 倍，而其浓集色氨酸的能力有限，只可浓集两倍。

（2）吸收介质的酶，形成酶反应中心：团聚体可吸收酶，进行合成和分解反应。奥巴林研究了淀粉的酶促合成和降解。他发现土豆的磷酸化酶（一种能催化葡萄糖－1－磷酸形成淀粉的酶）能被阿拉伯树胶和组蛋白组成的团聚体所吸收。如果把葡萄糖－1－磷酸加进团聚体小滴悬浮介质中，在滴内就合成了淀粉，30 分钟内，小滴的重量即增加 50%。而团聚体浓集葡萄糖－1－磷酸的能力不明，团聚体内葡萄糖－1－磷酸的浓度始终和介质中的浓度相等。因而，在团聚体内淀粉合成过程中，葡萄糖－1－磷酸一边被消耗，一边不断地从介质进入团聚体。

如果把 β－淀粉酶和磷酸化酶一起加入团聚体小滴中，那么小滴中形成的淀粉被水解成麦芽糖，随之扩散到介质中，如果淀粉合成速率大于水解速率，则淀粉在小滴中积累，小滴长大（图 20-6）。因为小滴的生长是以小滴内部的化学反应为基础的，因而比单纯吸收更具有生物学意义。

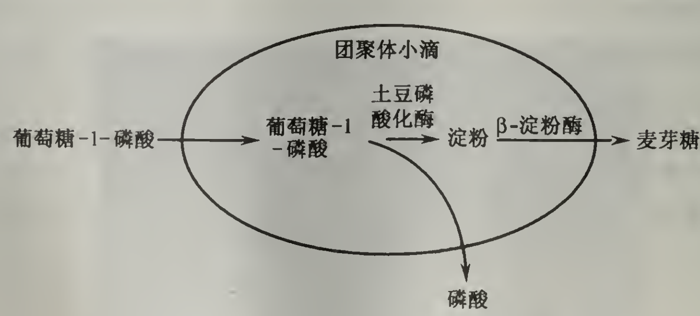


图 20－6　由阿拉伯树胶和组蛋白制成的团聚体，在掺入葡萄糖－1－磷酸，土豆磷酸化酶和 β－淀粉酶时，团聚体可成为淀粉合成和降解中心

（3）多核苷酸的酶促合成和降解，把核糖核酸酶掺入到由 RNA、血清清蛋白和阿拉伯树胶组成的团聚体小滴中，RNA 在小滴中可水解核苷酸，随之释放到介质中。

如果把细菌的多核苷酸磷酸化酶掺入到组蛋白和 RNA 的团聚体小滴中，即可通过酶的催化，合成多腺苷酸（polyA）。把 ADP 加入介质中时，ADP 可进入小滴，在小滴

中作为合成 polyA 的底物（图 20－7）。无机磷酸则被释放到介质中。团聚体的形成，是向形成细胞前进了一步，但它还不是活细胞，因为它对环境的变化还不具反应能力。它只可作为分子向细胞过渡的长过程中的一个重要环节。在原始海洋中可能产生过这种团聚体，Опарин 把它称为原生体(protobion).

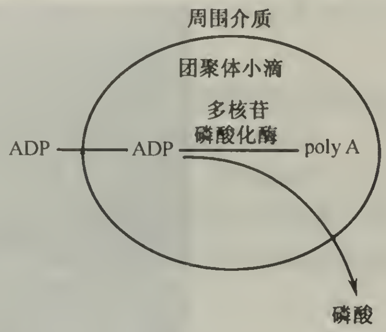


图 20－7　由组蛋白和 RNA 制成的团聚体，能吸收 ADP 和多核苷酸磷酸化酶，成为合成多腺苷酸的中心

(二)微球学说(microsphere theory)

Fox 等学者在热合成类蛋白的实验中发现，如果把类蛋白溶于沸腾的盐水或水中，随之冷却下来，溶液中就形成了大量的小球结构。他们称之为微球(图 20－8)。微球的形状为球形，直径约 2μm。其形状和大小与球菌相似，经过研究，微球具有以下特点：

(1)稳定：贮存数周，不会丧失结构完整性，经离心收集后结构仍不改变。

(2)出芽：在一定条件下，某些微球可进行分裂。例如，改变微球悬浮的介质 pH，能引起“出芽”(类似于酵母出芽生长)(图 20－9)。利用连续缩时摄影证明，微球生成的芽生链，并不是微球彼此相连接所致。用机械、热或振动的方法把小芽分下来收集之，当把小芽移入热的类蛋白饱和溶液中时，小芽的体积会长大，说明小芽有从周围环境摄取物质的本领。

(3)具有双层边界：改变形成微球的溶液的 pH 值，可把微球中央溶掉。经切片后，

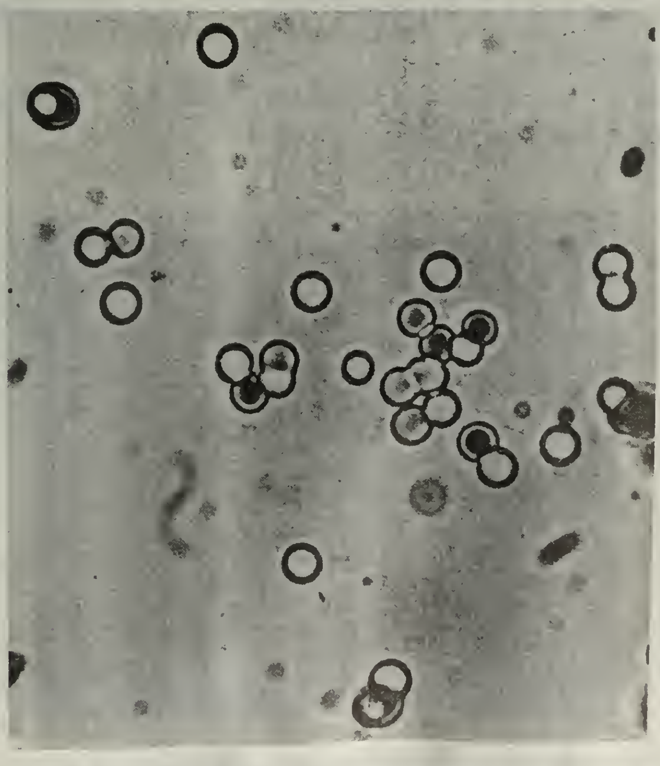


图 20－8　在沸水中加热溶解类蛋白，冷却后形成许多微球(自 Fox, S. W. 1965)

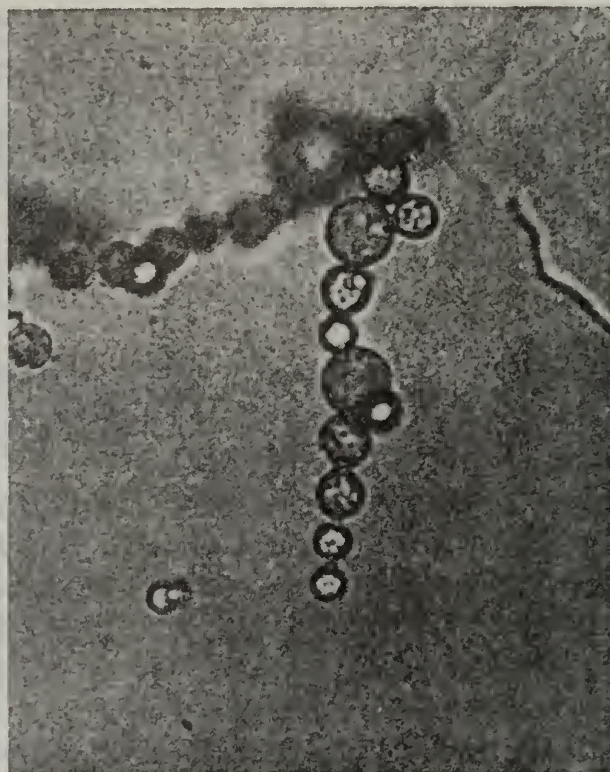


图 20－9　Fox 实验中的微球出芽,形成微球相连成链的现象(自 Fox, R. S. Young　1965)

在电镜下观察,可看出边界为一双层结构(图 20－10)。这种结构虽然和细胞膜很像,但厚度要比细胞膜厚很多。

(4) 水解活性：将含类蛋白和氢氧化锌的热水溶液冷却下来，即造成了含锌的微球。这种微球具有分解 ATP 的活性。

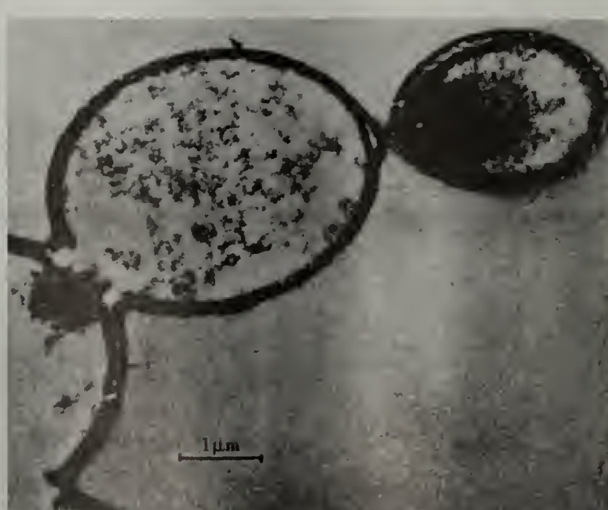


图 20－10　芽生的微球溶去中心后,显出双层边界

从外形上看,与细胞膜极为相似

(5)染色反应：用染色表明，酸性类蛋白微球是革氏阴性的，而含碱性类蛋白超过35%的微球，则为革氏阳性反应。

(6)渗透性：当把微球放在盐溶液中，如果溶质的浓度大于形成微球的溶液的浓度时，微球的体积收缩。反之则微球膨胀。这种现象和细胞的渗透现象很类似。

从Fox的实验中可看出，微球具有许多活细胞的属性。Fox设想，原始地球上，在热干燥环境中形成的类蛋白，被冲洗到原始海洋中，在潮汐作用的影响下很容易产生微球，这说明有机化合物有自然形成形态实体的倾向。但是我们还不能把微球看做是原始细胞，因为这种形态实体还没有自我复制的分子存在。

二、膜的自然形成

脂肪酸和磷脂由于具有亲水性和疏水性双重性质，因而有在水溶液表面形成薄膜的自然倾向。当它们被水包围时，则有形成球形胶粒或双分子层的倾向。这种磷脂双分子层的厚度和电镜下的自然膜很相似。

由脂类和蛋白质组成的表面膜很容易形成人工囊泡。例如在稀的卵白蛋白溶液表面铺上一层油酸膜，然后用机械法搅动液体表面破坏了表面膜，便形成了直径约为1～10μm的小管结构（图20－11），随之又形成囊泡。这些小管的外表面为一层蛋白质，内里为双层脂类。很像细胞膜的脂双层结构。

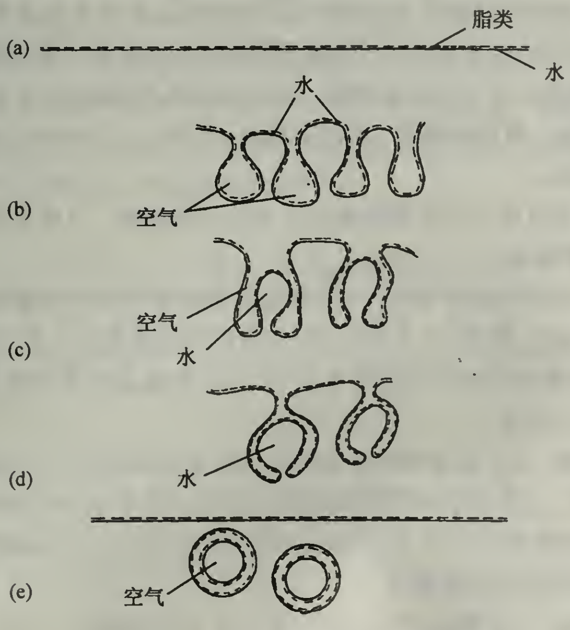


图20－11　脂蛋白囊泡形成的机制
(a)在蛋白质溶液表面上有一层脂类；(b)～(e)为经搅动后形成囊泡的过程

有人设想，在原始海洋中很可能会发生这种过程。由非生物合成的化合物在原始汤液表面形成的膜，遭到破坏后，也会形成小管和囊泡结构。这些囊泡从周围环境中吸收分子，成为集中有机物的形态实体，是进一步发展成活细胞的基础。

从上面我们介绍的这些机制来看，即便是原始地球上确实是按这样的程序形成细胞，那也是极为初级的一步。因为至今我们还没有在模拟条件下制造出具有生命现

象的最原始的细胞形式。但这不能排除有这样的可能性，即由这些初级形成的形态实体，合并进了能自我复制的分子，于是在自然界中便获得了更大的竞争能力，并能把遗传信息传递下去。从而把机能（代谢）结构和遗传结构连接了起来，诞生最原始的细胞。问题是，这是怎样连接的呢？答案还有待今后的工作。

三、细胞重建

我国学者贝时璋院士发现，体内已存在的某种物质，可以以细胞质、甚至细胞外某种基质为基地，通过自组织（self-organization）、自装配（self-assembly）过程，一步步地形成完整的细胞。他把这一过程称为“细胞重建”（cell reformation），在生物学发展史上第一次提出了细胞重建的理论。

早在 20 世纪 30 年代初期，在浙江大学生物系任教的贝时璋教授在一种甲壳类动物——南京丰年虫（*chirocephalus nankinensis*）的二倍体中雌中间性卵母细胞中首次发现细胞重建现象。1970 年中国科学院生物物理研究所成立了在贝时璋教授指导下的“细胞重建研究组”，重新开始了关于细胞重建现象的研究工作。他们把研究的范围扩大到了鸟类和哺乳类，甚至原核生物，均取得了一致的实验结果。现将他们所观察到的现象简介如下：

（1）丰年虫：在中雌中间性生殖腺和生殖管道之间，生长中的卵母细胞的细胞质中形成许多核，随后经细胞质的分割和质膜的形成，产生了许多新的细胞。有的细胞内部可产生许多大的核状结构，充斥整个细胞。有的细胞中核体积大小不等，说明这种多核体内的核是处于不同重建时期。有的多核体外膜破裂，分散出核。有的核类似裸核；有的则包有一薄层细胞质，表面有质膜，很像人工制备的“核体”（karyoplast）或“小细胞”（minicell）。

因此，丰年虫中雌中间性受精囊内长成的卵母细胞，以卵黄颗粒为基础，以细胞质为基地，能重建细胞。

（2）鸡胚：胚下腔的卵黄表层中，以卵黄为基础重建成下层细胞（hypoblasts）。经测定，卵黄中含有 DNA，孵育 24 小时后，比未孵育的含量高出 1 倍。用组蛋白反应、孚尔根反应和 ^{3}H－胸腺嘧啶核苷放射自显影等方法，都显示出类似染色质的物质存在。这些 DNA 与核 DNA 无关。

（3）小鼠骨髓：在小鼠骨髓体外液体培养的悬液细胞涂片上和贴壁细胞中均看到了裸核和裸核群。这些裸核的结构和染色反应均具有新生核的特征。此外，还存在有多核体，所含核的体积大小不一，表现出不同的重建阶段。在细胞群落的石蜡切片中，还看到不同发育阶段的幼稚细胞。

（4）原核细胞：在沙眼衣原体中也发现了有自组装现象。大豆根瘤菌的过滤性小体和碎片也能经过自组装重建或再生成为菌。

根据对上述材料的观察，他们认为细胞的增殖存在着一条“细胞重建”的途径。真核生物细胞重建过程，一般先是以卵黄为基础，在细胞质内或细胞间质中形成“裸核”。随后经细胞质的分割和质膜的形成，产生出许多新细胞。

细胞重建现象的发现将对生命科学产生重大影响。细胞重建观点的核心是，主张细胞分裂不是细胞繁殖的惟一途径；细胞重建可能是现代生物体内对地球细胞起源的反映，是简单的生命形态进化为细胞的漫长过程的一个缩影。细胞重建的研究，有

助于对生命进化过程的阐释。细胞重建观点今后将接受更多的验证。

第四节　原核细胞的出现

现在大家一般认为原始的原核细胞是最早的生命实体。关于有机分子是怎样形成最早的细胞样实体的，还缺乏具体详细的了解。根据生物化石研究推断，这一过程很可能发生在35亿年以前几亿年的时期里，地质学家把地质年代划分为若干代和纪（表20－2）以便于查找演化顺序关系。

目前发现的最早的化石是在澳大利亚的35亿年地层中发现的球形微结构，据认为这是最早的原核生物化石。自此以后，不同类型的生物化石逐渐增多（图20－12至图20－17），反应了生物在向更高级的形式进化（表20－3）。

在前寒武纪的后4亿年中（10～6亿年前）的化石中发现了多细胞有机体的踪迹。其中有海绵、多毛类、水母等。到寒武纪，各种动植物化石大量出现，几乎所有的海栖动植物种类都有，此后生命有机体进入了迅速进化的繁茂时期。

从以上的介绍我们大致了解了生命起源的基本轮廓，生命系统可能发生在距今32～37亿年的时期。唯物主义学说认为，最早的细胞是经过漫长的化学进化过程发展起来的，在这一过程中，原始地球上通过非生物途径合成了简单有机化合物，后来逐渐发展得越来越复杂，最后形成了独立的能进行繁殖的形态实体。产生了具有能保证连续繁殖的最低代谢能力的原始细胞。当然，至今这一步进化的证据还很不充分。

原始大气是还原性的，缺乏游离的氧，因此最早的细胞应是厌气性异养生物。它们利用非生物合成的有机物在缺氧的环境中合成自身的有机物，随着代谢途径的进化。细胞逐步获得了能自己合成本身所需要的各种化合物的能力。最后进化产生了分解葡萄糖的能力，并利用释放出的能量合成ATP。

表20－2　地质年代表

代	纪	系或世	估计年龄（以百万年为单位）
新生代	第四纪	全新世	2～3
		更新世	12
	第三纪	上新世	26
		中新世	37～38
		渐新世	55～54
		始新世	65
		古新世	67
中生代	白垩纪		138
	侏罗纪		190～195
	三叠纪		225
	二叠纪		283
	石灰纪		350
	泥盆纪		400
	志留纪		440
	奥陶纪		500
	寒武纪		570
前寒武纪			1700
			2500

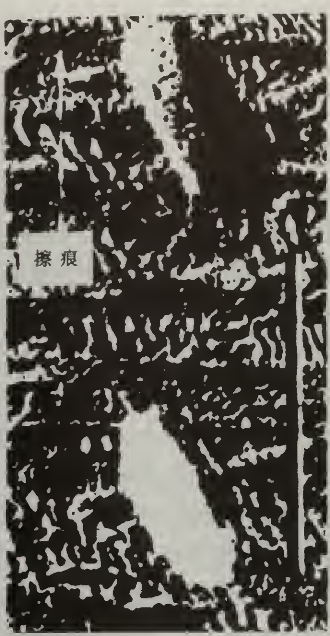


图 20-12　Fig-Tree 地层黑硅石中 *Eobacterium islatum* 标本的电镜照片

图中的上部结构为 Fig Tree 燧石标本的表面复膜造影，图下部的结构为棒状化石脱落后的外形。（自 Barghcorn E. S. and Schopf, E. S. 1986）

表 20-3　化石记录显示出的原核生物和真核生物进化地质年代

地质年代	发现地点及地层	发现者	化石结构	进化意义
35 亿年	澳大利亚		球形微结构	最早的原核生物化石
32 亿年以上	南非：Onverwacht 地层	Engel 和 Brooks 等	杯状、球状和丝状微结构	丝状结构类似于距今 10 亿年的晚前寒武纪蓝细菌化石
32 亿年	南非：Fig-Tree 地层		棒状和丝状结构	棒状结构有双层膜，很像具有细胞壁的棒状菌；丝状结构类似现今的蓝细菌发现了 n-链烷和类异戊二烯；后者中的植烷和降植烷是叶绿素的降解产物，说明这时可能出现了光合作用生物，大气由还原性的变为氧化性的，生物前合成的条件丧失
27 亿年	津巴布韦：Bulawayo　美国：苏丹铁		单个和成簇的球形结构	类似现今的细菌和蓝细菌。光合作用生物太量出现
19 亿年	加拿大：燧石铁		孢子状结构、杆状和球状结构	出现了铁细菌和颤藻。发现了降植烷和植烷等有机物
12~14 亿年	美国：Beck Spring	Cloud	真核绿藻	出现了真核生物
10 亿年	澳大利亚：Bitter Spring		多种蓝细菌；带节的丝状结构	出现了真核绿藻和真菌，以及多细胞生物

化学合成细菌和光合作用原核生物（厌气性自养生物）的出现，是生态进化中的代谢飞跃，有机体可通过光合作用，利用太阳的辐射能（光）制造出含有丰富能量的ATP。同时也放出了分子氧。产氧的光合作用生物，有些同现今的蓝细菌(过去称蓝藻)很相像，可能是在距今27亿年前出现的。

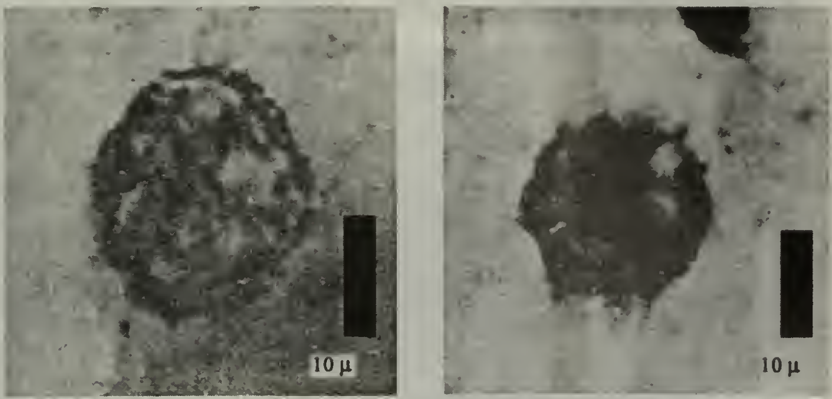


图 20－13　Barghoorm 和 Schopf 用光镜在 Fig-Tree 燧石中发现藻类状的化石

这些化石在形态上与现代单细胞蓝细菌相似，已被命名为 *Archaeospaeroides barbertonensis*(自 Barghoorn, F. S. 1971)

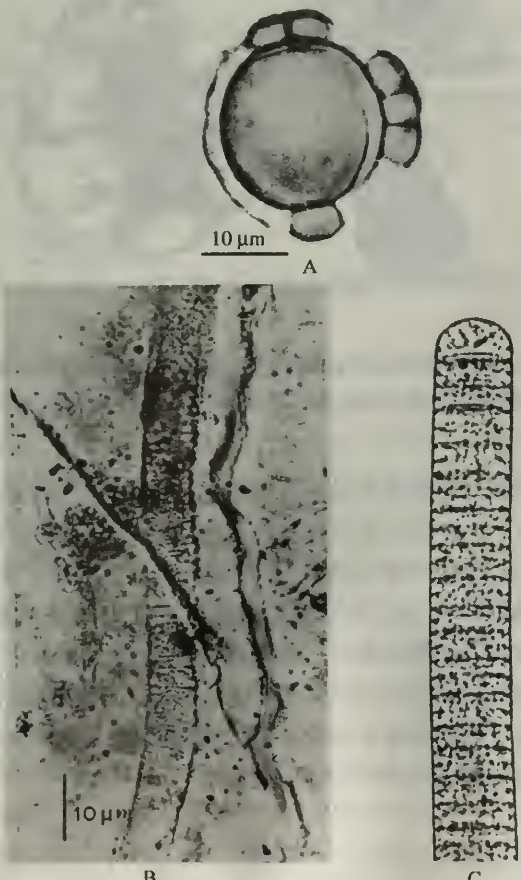
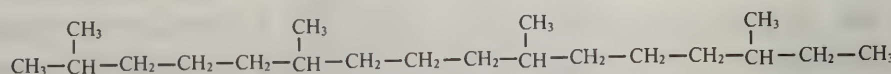
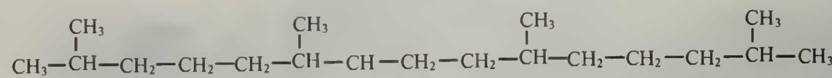


图 20－14　Gunflint Iron 地层中发现的化石生物，距今约 19 亿年

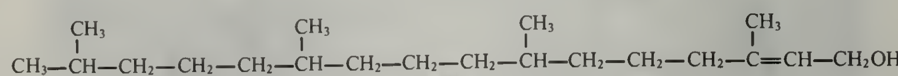
A. 为球形微结构，球形外表有一层厚壁和一层薄壁，还看不出和现今的生物有什么关系；B. 丝状微结构，与现今的蓝细菌很相似；C. 现今颤藻，便于比较(A, B 自 Barghoorn, E. S. and Tyler, S. A. 1965, C. 自 Bold, H.'C. 1970)



植烷



降植烷



植醇

图 20－15　β 类异戊二烯脂类的植烷和降植烷在结构上和叶绿素的植醇相似
植烷和降植烷在前寒武纪早期地层中存在，说明光合作用生物在 30 亿年前就出现了

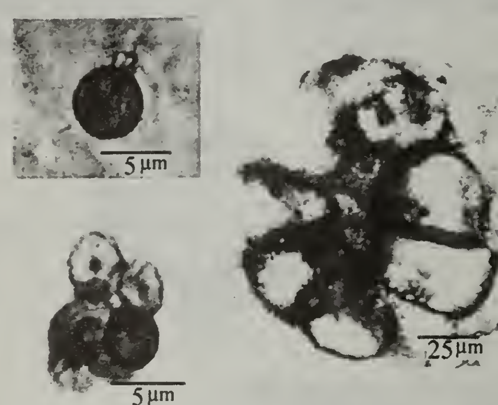


图 20-16　在距今 12～14 亿年的 Beck Spring 白云石中发现的化石结构很像现今的真核绿藻，内部的黑点可能是真核细胞的结构（自 Cloud, P. E.　1969）

产氧光合作用，对生物进化有着深远的意义。原始大气中由于氧的积累，那些厌气原核生物被消灭了，或者局限在少数缺氧环境中生存。那些在有氧和无氧环境中都能生存的厌气生物（机能厌气菌），可能会广泛分布。当大气中氧浓度增高时，那些好气的自养和异养生物就大大占优势而繁衍起来。大气中的游离氧，可产生臭氧层，臭氧层能吸收部分紫外线，而保护地面上的生物向更高级水平进化。

真核细胞大约是在 15 亿年前出现的，是由原始原核细胞进化而来。真核细胞的出现、进化产生了现今细胞的代谢类型。这些真核细胞是好气的，能在有氧环境中生活。真核生物的进化便使生物界更加繁荣起来。

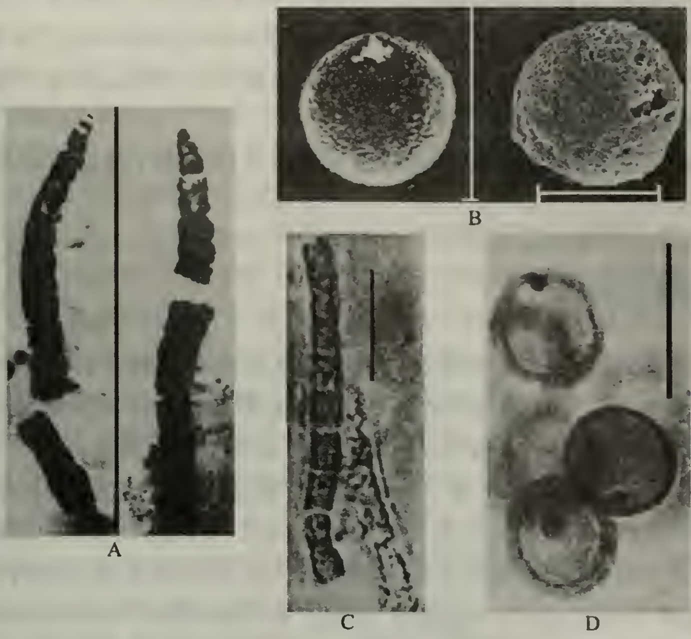


图 20－17　在前寒武纪晚期 Bitter Spring 地层（～10 亿年前）中发现的化石生物
有各种各样形态：A. 尖头丝状。像现今的丝状蓝细菌，如颤藻和念珠藻。B. 球形蓝细菌，形态和大小均与在前寒武纪早期在 Onverwacht 地层中发现的球形结构相似。C. 大的丝状体，与现今蓝细菌酷似。D. 球形结构，与小球绿藻一衣藻类似。（（A）自 Schopf, J. W. and Black, J M. 1971,（B）自 Schopf, J. W. 1970,（C）和（D）自 Barghoorn F. S. and Schopf, J. W. 1965）

第五节　真核细胞的起源和进化

在生命起源和细胞进化的漫长过程中，有机物是怎样演化成细胞的和真核细胞是怎样产生的，是引人注目的两个重大问题，也是两大难题，至今尚未得到彻底阐明。特别是后一个问题，在学术界中争论尤为激烈。因为争论的双方均可以现代生物的某些特征为论据，来发表各自的见解，而前一个问题显然比较缺乏这种争论基础了。

真核细胞无论在结构上还是在功能上都是比原核细胞更为复杂的一类细胞。它们在结构上最显著的差别是，真核细胞具有由双层膜包围着的核和象线粒体、叶绿体、中心粒这样一些细胞器。现在大家一致的看法是真核细胞是由原核细胞进化而来的，因此所谓真核细胞的起源，也无非是要找出真核细胞的这些特征结构的起源。当然也有少数人认为，原核细胞和真核细胞是各不相关独立发生的，持有二元论的观点。但是越来越多的事实证明，原核细胞和真核细胞在代谢机制和遗传机制上极为相似，例如，氨基酸的编码；转录和转译的机制；能量的利用方式等基本上都是一样的。很难设想，如此相似的遗传和代谢机制，竟会是完全独立地进化出来的。因此独立起源学说已为生物学家们所否定。近几年的研究发现，枝原体中的一些热原体（*Thermoplasma acidophila*）有许多类似于真核细胞的特点，如无细胞壁；含有组蛋白样的蛋白质；DNA 绕成类似于核小体的小体，但体积较小；含有肌动蛋白样的细胞骨架

成分，可被细胞松弛素 B 所抑制；含有一种 b 型细胞色素；有类似于过氧化物酶体的活动；含有一种过氧化物歧化酶（兼具原核生物和真核生物的特点）。因而，进化为真核生物的祖先可能是与热原体有亲缘关系的原核生物。因此，把这一类生物称为古细菌（Archaebacteria）。

现在问题已集中到原核生物是通过什么方式进化出了细胞核和某些重要的细胞器。

一、细胞核的起源

原核细胞没有由膜包围的真正细胞核，有的原核细胞只有遗传物质集中的类核区，因而其转录和转译活动是同时进行的，没有严格的分区。而代谢活动区域化和秩序化则是进化水平更高级的象征，区域化使代谢效率大大提高。

在原核生物中，有的已出现了质膜内褶而形成的细胞内膜。有的细菌有质膜内褶形成的管状中体。蓝细菌进行光合作用的结构是一种复杂的片层系统。有一些硫细菌，质膜内褶并分枝成网，形成了更为复杂的结构，同真核细胞内质网很相像。因此内质网很可能就是通过这种方式进化产生的，在真核细胞中有时确可看到内质网和质膜相连的现象，这就更加支持了这种设想。

既然质膜内褶可以形成内质网，那么内质网进一步折曲，将核区包围起来，便形成了核被膜。现在大多数学者都赞同核被膜是通过这种内褶方式起源的。许多研究表明，内质网确实和核被膜有密切的关系，主要表现在这样两点：①核被膜由双层单位膜构成，两层膜之间隔有空隙，此空隙称为核围隙，核被膜外层和内质网膜相连，核围隙和内质网池相通；②核被膜外层的细胞质面上结合有核糖体，在有丝分裂前期末，核被膜破裂，形成了一些小囊泡，这时核被膜内层朝向核液的一面也可结合上核糖体。这说明，核被膜无论在形态上还是在性质上都和内质网相同。由此可见，真核细胞内膜系统这些结构特点，有力地支持了主张核被膜是由质膜→内质网→核被膜进化而来的观点。虽然，有的学者（Kunicki-Goldfinger, W. J. H. 1980）仍主张核也是由细胞内共生体（endocytobiont）逐渐进化来的，但由于论据不足，说服力不强，这一观点没有被学者们所接受。

二、中心粒、过氧化物酶体、线粒体和叶绿体的起源

关于真核细胞起源问题，研究的焦点是中心粒、过氧化物酶体、线粒体和叶绿体的进化来源。在这方面存在着两种对立的观点，即内共生假说（endosymbiotic hypothesis）或称为细胞内共生假说（endocytobiotic hypothesis）和分隔假说（compartmental hypothesis）。这两种假说的主要分歧在于，前者主张真核细胞是由几种原核细胞共生进化而来，而后者则主张真核细胞是由一种原核细胞经过分隔进化而来。下面分别介绍两种假说的要点。

（一）内共生假说

内共生观点的出现，最早可追溯到 19 世纪末，1883 年 A. F. W. Schimper 认为植

物细胞与其所含的叶绿体可能是一种共生关系。1905 年 Mereschekowsky 正式提出了真核生物细胞器是共生起源的观点，他认为叶绿体是起源于蓝藻（blue-green algae）[由于蓝藻在亲缘关系上和细菌很近，故现称为蓝细菌（cyanobacteria）]。后来，P. Portier(1918) 和 I. E. Wallin(1922) 主张，线粒体可能是由细胞内共生的细菌进化而来。此后，由于受当时生物学发展水平的限制，没有取得更多的证据支持共生假说，因而约半个世纪，在这方面没有再进行讨论。

直到 1961 年，H. Ris 和 W. Plaut 利用细胞化学法和放射自显影技术证明叶绿体中含有 DNA，这种丝状的 DNA 和原核生物中裸露的 DNA 很相像。1963 年 M. Nass 和 J. Nass 又发现了线粒体中含有 DNA。至此，关于真核细胞起源的共生假说又重新活跃起来。1964 年 Giber 和 Granick 综述了细胞器的遗传和合成系统，并论证了线粒体和叶绿体都具有合成自身某些成分的能力，这种能力和细胞器中含有 DNA 有关。与此同时又发现，原核生物的核糖体的大小与真核生物的不同，前者为 70S 类型的，而后者为 80S 类型的，而线粒体和叶绿体中的核糖体同原核生物的相像。1966 年 P. Echlin 把蓝细菌与叶绿体进行了比较后发现，二者有许多方面非常相似，如都含有裸露的（无组蛋白）的 DNA，在色素、代谢途径、类囊体结构、核糖体类型和对抗生素敏感性等方面都很类似，因而有力地证明了叶绿体起源于蓝细菌。

在 20 世纪 60 年代以前主要是根据形态学上的资料来进行论证，此后随着细胞生物学的进展，又为共生学假说提供了更深入的证据。1967 年 L. Sagan（即 L. Marglis，Sagan 为 Marglis 的婚前姓氏）发表了“关于有丝分裂细胞的起源”一文，主张线粒体、叶绿体和中心粒等主要细胞器都曾一度是自由生活的原核生物，通过共生而进化出真核生物。她认为这一过程的顺序是，先有厌氧的变形虫样宿主，随后吞入了原线粒体（protomitochondrion），继之又并入了能动的原核生物，从而产生了带鞭毛的、可进行有丝分裂的异养生物。后来，某些异养生物又并入了蓝细菌，导致出现了光合作用真核生物。此文的重点是主张微管组织中心（microtubule organizing centres MTOCs）（她称为 9+2 同源体）是起源于原核生物。1970 年 L. Margulis（即 L. Sagan，Marglis 为 L. Sagan 的婚后夫姓）发表了《真核细胞的起源》（Origin of Eukaryotic Cells）一书，又全面系统地论述了内共生学说，中心思想仍然是主张真核细胞来源于几种祖先原核生物的共生。她设想，一种厌氧异养原核生物吞入了自由生活的需氧细菌没有消化，彼此形成共生关系。需氧细菌逐渐进化为真核细胞线粒体，这种需氧细菌被称为原线粒体。叶绿体也是通过相同的机制，由共生的蓝细菌进化而来。中心粒、基体和鞭毛则是由外共生的螺旋体样能动的原核生物进化来的（图 20-18）。内共生假说认为，真核细胞是通过一种共生顺序过程产生的，先建立线粒体，后建立叶绿体，这种基本理论称为系列内共生假说（serial endosymbiosis hypothesis, SEH）。

目前内共生假说虽在某些方面对 Margulis 原来的主张做了修改，可是 Margulis 的论述思路新颖，具有创见性，因而在当时对内共生现象的研究起了积极的推动作用。最近一二十年来，主张内共生假说的学者们积极通过细胞生物学的研究来寻找论据，从而使内共生现象的研究同细胞生物学相汇合而产生了一门新学科，即内共生细胞生物学（endocytobiology）。这门学科的发展必将为探索真核细胞的起源做出更多的贡献。下面将已取得的内共生假说的主要论据综合如下：

（1）在形态大小和结构方面，线粒体与细菌相似，叶绿体与蓝藻（蓝细菌）相似。线粒体内膜和细菌质膜都有内褶形成的结构，线粒体内膜和需氧细菌质膜上都存在有

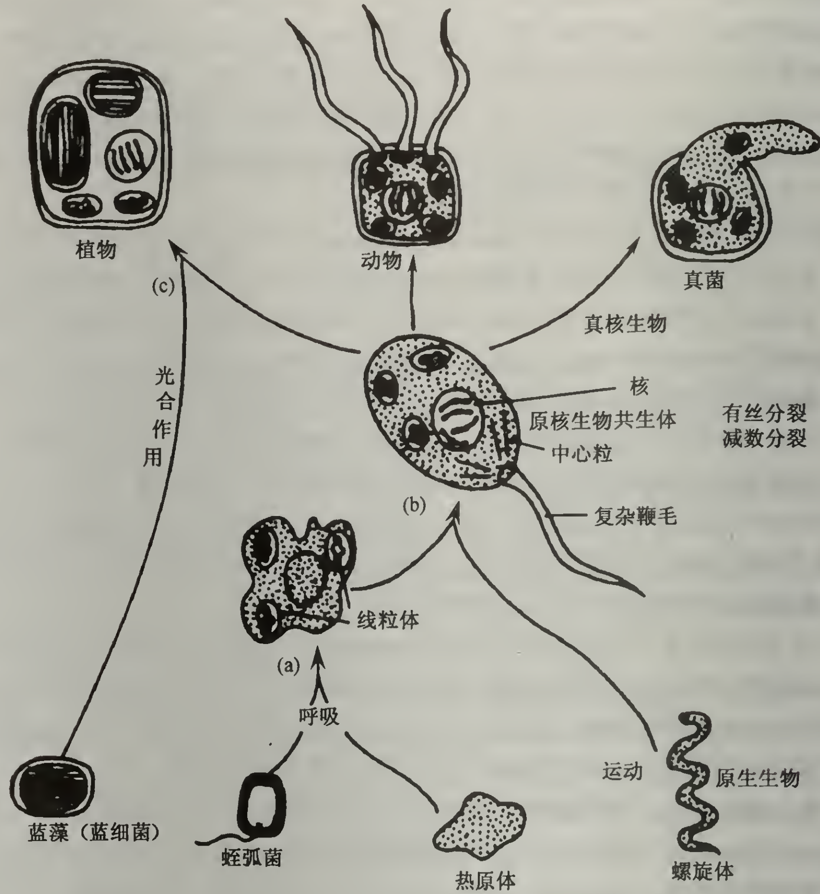


图 20－18　L. Margulis 的真核细胞共生起源假说图解(仿 Margulis, L. 1981)

(a) 热原体样的细菌具有能动的细胞表面，吞入需氧细菌，相当于现今的副球菌（*paracocus*）或蛭弧菌（*Bdollovibrio*），后者进化为线粒体；(b) 第二步又同螺旋体样生物形成内共生关系，产生了真核生物的鞭毛和纤毛；(c)第三步和能进行光合作用的蓝细菌原核生物形成内共生关系，产生了叶绿体

同需氧代谢和磷酸化有关的机构，即呼吸链和 ATP 合成酶复合物。在化学组成上，线粒体外膜与真核细胞的质膜相似（如胆固醇含量），而线粒体内膜则与原核细胞的质膜相似（如心磷脂的含量）。

(2)线粒体和叶绿体中都含有 DNA、mRNA、tRNA 和核糖体，是半自主性细胞器，它们能生长，并像细菌一样，以二分方式进行繁殖，其分裂速率和细胞分裂不同步。它们都具有合成本身某些蛋白质成分的能力。它们的结构和功能是由自身的 DNA 和核 DNA 共同控制。这些特征具有曾是独立生存的生物的性质。

(3)线粒体、叶绿体和原核细胞中所含的 DNA 均为裸露的环状分子，而真核细胞的核 DNA 则是线性的，复合有组蛋白。

(4)线粒体、叶绿体的核糖体在大小和反应性质上与原核生物的相似。线粒体、叶绿体和原核细胞的核糖体都同属 70S 类型的，而真核细胞细胞基质中的核糖体为 80S 类型的。两类核糖体对抗生素的敏感性不同，例如氯霉素能抑制线粒体、叶绿体和原核细胞的核糖体的蛋白质合成，而对真核细胞细胞质中 80S 核糖体的蛋白质合成无

抑制作用。反之,亚胺环己酮(cycloheximide)能抑制真核细胞 80S 核糖体的蛋白质合成,但对线粒体、叶绿体和原核细胞 70S 核糖体的蛋白质合成无抑制效应。

(5)线粒体、叶绿体和原核生物的多肽链合成均以 N－甲酰甲硫氨酰 t-RNA 为起始,而真核细胞细胞质中的蛋白质合成则以甲硫氨酰－tRNA 为起始。

(6)现今的生物中,有些真核细胞存在有内共生现象。例如,有的蓝细菌是变形虫、硅藻、鞭毛原生生物和无叶绿体的绿藻的内共生体(endosymbiont),共生关系使宿主获得了进行光合作用的能力。另外,在草履虫(*Paramecium aurelia*)中也发现了有几种共生的革兰氏阴性菌。豆科植物中的根瘤菌(固氮菌)更是大家所熟悉的内共生体,根瘤菌使一些豆科植物获得了固氮利益。已发现,细胞内共生的蓝细菌(*Cyanophora* 和 *Geosiphon*)与红藻的叶绿体极为相似,而副球菌(*Paracoccus denitrificans*)则与线粒体酷似,因而它被称为"自由生活的和高度适应的"线粒体。又如在白蚁(*Termite*)的消化道中有一种鞭毛虫(*Myxotrichia*),它的运动就是靠表面上的一种螺旋体来推动,这被用来作为鞭毛是共生起源的例证。

(7)根据对 RNA 和 DNA 的碱基序列分析表明,叶绿体与蓝细菌在 rRNA、DNA 和核糖体等方面极为相似,有力地支持了叶绿体起源于蓝细菌的论点。

(8)线粒体和叶绿体都可在异源细胞内生存。把鸡胚细胞的线粒体引入到小鼠的成纤维细胞(体外培养)30 分钟后可以观察到鸡的线粒体进入小鼠细胞,而且在小鼠的第 4 代细胞中仍然可以见到鸡的线粒体。

叶绿体离体培养仍可存活,并能进行蛋白质合成;叶绿体可在特殊软体动物中自然长期共生。这些皆说明线粒体和叶绿体的自主性与共生性特征。

(9)有证据表明基因可能从叶绿体与线粒体转移到核内。在菠菜细胞核 DNA 中发现了一些叶绿体 DNA 的片段,这些片段是在若干特定位点插入到核的基因组的,还发现叶绿体 DNA 片段不仅能转移到核的 DNA 中,而且能整合到线粒体的 DNA 中。还有类似的例子说明线粒体 DNA 转移到核 DNA 中并不是个别现象。既然发现基因可从叶绿体与线粒体向核内转移,那么基因同样也可以由核向叶绿体或线粒体转移。这可以合理解释叶绿体与线粒体内共生起源学说遇到的问题,即为什么叶绿体基因中存在着内含子,而真细菌原核生物基因中不存在内含子。

关于重要细胞器的起源问题,溶酶体发现者 Christian de Duve 赞同内共生学说。他认为,过氧化物酶体的前体很可能是发育成真核生物细胞器的第一种原核生物,它们对因大气中氧含量升高而产生的破坏性化合物有解毒作用。线粒体的前体作为原始真核细胞内吞的第二种原核生物,更加擅长于保护寄主细胞对抗氧,并提供更大的生成富能分子腺苷三磷酸(ATP)的能力。然后,过氧化物酶体和线粒体的发育允许接纳光合作用中起产氧中心作用的原核生物——叶绿体的前体。这最后一步通过提供利用日光能量制造物质的途径,使寄主细胞获益。

线粒体和叶绿体将其原来含有的大多数基因转给核,而且此刻较老的过氧化物酶体可能已失去它们所有的 DNA。现在的线粒体、叶绿体和过氧化物酶体借助于它们结合在膜中的复杂运输结构从周围的细胞质中获得蛋白质。

(二)分隔假说

关于真核细胞的起源问题,分隔假说则持有另外的观点。分隔假说又称经典假说

(classical hypothesis) 或进化假说 (evolutionary hypothesis), 这一假说是遵循达尔文的进化论观点来解释真核细胞的起源。分隔假说认为,生物进化由低等到高等反映了生物界系统发生的过程,同样在细胞发生上也不例外。祖先原核生物的进化逐步积累了在选择上的有利突变,最后进化出了真核细胞。既然真核细胞的内质网和细胞核可以由祖先原核细胞的质膜逐步内褶进化而成,那么线粒体和叶绿体也能以同样的方式由质膜内褶形成。因此,分隔假说主张,线粒体、叶绿体、细胞核、内质网等细胞器均可由质膜内褶,将细胞分隔成若干区域而形成(图 20 - 19)。线粒体和叶绿体与原核细胞之所以有某些相似之处,即是由共同祖先保留下来的原始特征。

在 20 世纪 70 年代,分隔假说的代表学者 T. Uzzel 和 C. Spolsky(1974) 及 R. A. Raff 和 H. R. Mahler(1972)等对分隔假说做了阐述。他们认为,线粒体、叶绿体和核的形成过程是在祖先原核细胞中进行的,这种祖先原核细胞为需氧性的,并能进行光合作用。祖先原核细胞的 DNA 发生复制时,细胞没有分裂,结果使细胞含有几套 DNA。像原核细胞一样,DNA 分子附着在质膜的内表面上,该处质膜发生内褶,分别包围了各套 DNA,形成了具有双层膜的小体。这些小体最初在结构和功能上非常相似,都含有相同的 DNA,都具有双层膜,都含有进行光合作用和需氧代谢的机构。最后,这些小体逐渐分化,而分别演变成了具有双层膜的核,能进行光合作用的叶绿体和进行有氧代谢的线粒体。在这一分化过程中,线粒体和叶绿体 DNA 的主要指导功能转移到核中,而只留下了指导进不到细胞器内的蛋白质的合成功能,结果导致了外膜与内膜在蛋白质组成上不同。祖先原核细胞质膜发生内褶扩大了代谢面积,这种有利的变化显然能够被选择下来。

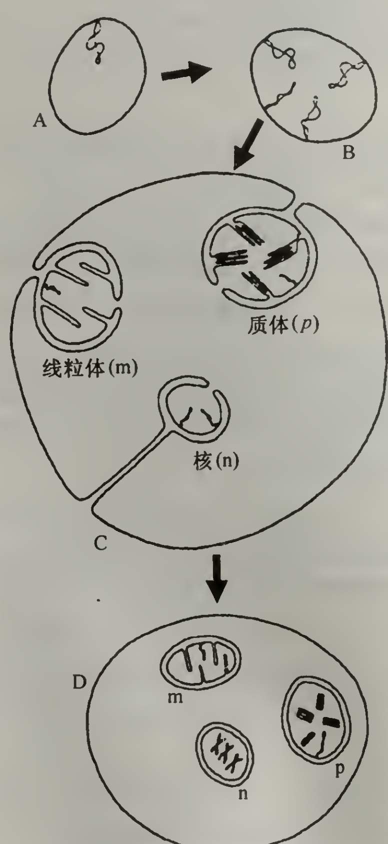


图 20 - 19　真核细胞起源的分隔假说示意图
细胞核、线粒体和质体均可由祖先原核细胞的质膜内褶包围的一定区域,进化而成。A. 示原核生物;B. 原核生物 DNA 复制,而细胞不分裂;C. 质膜内陷,形成双层膜结构;D. 结构分化,消除重复功能。
(自 Uzzell and Spolsky　1974)

也有的学者认为,细胞器 DNA 是由大的细胞 DNA 上分离下来的 1 个基因组片段,然后被膜包围。另一些学者则主张,含有为细胞器结构和功能编码基因的质粒或质粒样 DNA 被膜包围后,构成了线粒体和叶绿体。

真核细胞的起源进化是发生在遥远的几十亿年以前,现在无法重演这一过程,要能真实描绘出真核细胞起源的客观过程是极其困难的。因此,真核细胞起源的研究仍要做大量的艰巨工作,尚有许多问题有待于今后寻找合理的答案。例如:

(1) 内共生假说认为,祖先宿主原

核细胞吞入的内共生体进化成了线粒体和叶绿体。可是迄今为止，尚未发现存在有能吞噬其他细胞的原核生物。

（2）在线粒体 DNA 中发现有例外的遗传密码。过去，通过对 DNA 核苷酸顺序、RNA 核苷酸顺序和蛋白质氨基酸顺序的分析比较表明，遗传密码与氨基酸的特定对应关系在生物界中普遍适用，无一例外。可是，对人类、酵母和链孢霉（*Neurospora*）线粒体中的全部三联体密码子分析后发现，有 3 种密码子既不同于真核细胞的，也不同于原核细胞的通用密码子。例如 UGA 一般为终止信号，而在线粒体中却代表色氨酸，其他两种的变化列于表 20－4。这一重要发现与内共生假说认为线粒体来源于原核生物的内共生体的观点不相一致。

表 20－4　几种线粒体密码子与标准的细胞质转译系统的差异

mRNA 密码子	编码的氨基酸			
	细胞质	线粒体		
		哺乳动物	酵母	链孢霉
CUU CUC CUA CUG	亮氨酸	亮氨酸	苏氨酸	亮氨酸
AUA	异亮氨酸	甲硫氨酸	异亮氨酸	异亮氨酸
UGA	终止信号	色氨酸	色氨酸	色氨酸

（3）关于中心粒、鞭毛和有丝分裂的共生起源问题，由于没有取得有力的证据，而没有为多数学者所接受的见解。Margulis 主张，真核生物的鞭毛和其他“9＋2 同源体”（微管组织中心，MTOC）是由螺旋体样原核生物外共生体（ectosymbiont）同原真核生物（protoeukaryote）合并产生的。由此，Margulis 推论，中心粒和基体应含有 DNA。Margulis 等对螺旋体的研究表明，螺旋体中存在有微管样结构，其直径与真核细胞中的微管直径（20±5nm））相当。利用荧光免疫法显示，其组成成分为微管蛋白，而不是鞭毛素。但是，Margulis 的看法未被广泛接受，这是由于：并未发现中心粒中含有 DNA；MTOC 是细胞核－细胞质的整体组成成分，没有膜隔离开。因而，尽管螺旋体样微管成分是真核细胞微管的同源体，这也只是宿主祖先和螺旋体祖先有亲缘关系的反映。

（4）此外还有许多问题有待于研究，如祖先真核生物是否已存在了 MTOC，还是外源性的？在线粒体或中心粒／基体产生之前是否已有了真核细胞？细胞器是否为不同祖先的多种起源？

总之，关于真核细胞的起源问题还有许多方面有待于今后去研究解决。

内共生假说与分隔假说在解释真核细胞起源问题上存在分歧的焦点还是：究竟是多种祖先生物的共生起源？还是一种祖先原核生物渐变进化起源？图 20－20 表示出两种假说对真核细胞起源过程的不同看法。真核细胞究竟是通过什么途径进化产生？是否还会有另外的进化途径？需要大家进一步去研究，去判断。

上面所介绍的内容只是关于真核细胞起源的两种假说的基本论点。80 年代，随着细胞生物学研究的不断发展，内共生假说又发现了许多新的论据，两派学者的观点在某些方面也都有所修改。关于叶绿体起源于蓝细菌的见解，基本上得到了一致的看法。特别是在发现了蓝细菌的蓝细菌内共生体（cyanelle）具有肽聚糖壁和相当于质粒

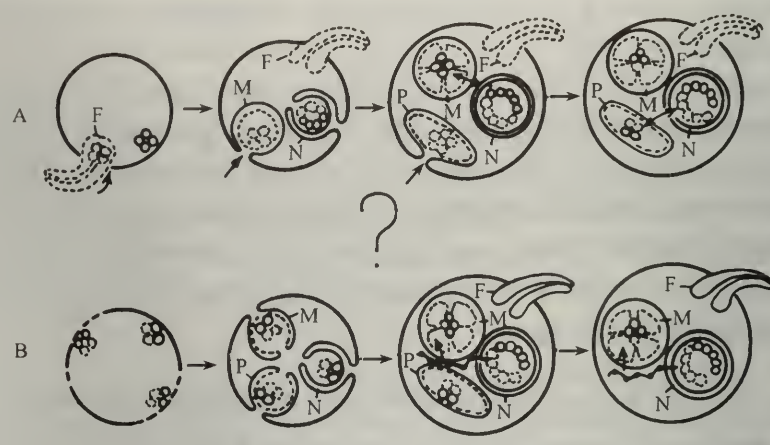


图 20-20　内共生假说(A)和分隔假说(B)对真核细胞起源的不同看法的图解
图中的符号:F. 鞭毛;M. 线粒体;N. 核;P. 质体(仿 Schwemmler ,W. et al. 1980)

大小的基因组之后,就更加支持了叶绿体的共生起源说。利用蛋白质和核酸序列分析技术的研究结果表明,叶绿体与原核藻类有一定的亲缘关系,蓝细菌与红藻叶绿体极为相似。在这两个系统中,藻胆体(phycobilisome)颗粒含有同一种藻胆蛋白(phycobiliprotein)色素,类囊体均不成摞,均无细胞色素。反之,其他真核生物中的叶绿体却与原核生物的原核绿藻(prochlorophyte)(*Prochloron*)极为相似,它们都无藻胆蛋白,但都含细胞色素 b。由此可见,叶绿体可能起源于 2 种不同的原核生物祖先,大多数藻类和高等植物的叶绿体起源于原核绿藻,而红藻叶绿体的祖先是蓝藻(*Cyanophyte*),即蓝细菌。从相似程度来看,蓝藻与红藻叶绿体之间的相似性超过了原核绿藻与绿色植物叶绿体之间的相似性,因此红藻叶绿体由蓝藻进化来的时间要晚于绿色植物叶绿体由原核绿藻进化来的时间。叶绿体由 2 种祖先进化来的观点可以解释为什么红藻和其他真核生物核遗传系统相同,而与叶绿体系统不同的现象。

可是,关于线粒体的起源问题,仍存在着不同的见解。从表 20-5 所列出的数据可以看出,线粒体基因组不仅存在着种间差异,而且既不同于原核生物的基因组,也不同于真核生物的核基因组。因此,如果线粒体是起源于祖先原核生物,那么起码也要有多个祖先,或者是内共生体具有不同的进化途径。

提　　要

生命是细胞的属性,生命起源是和细胞的产生相联系的。生命的起源是一个漫长的过程,生命是在自然界中化学变化的基础上产生的。大体上可把生命起源的变化过程划分为化学进化和生物进化两个阶段,前一阶段是指细胞出现以前的化学物质由简单到复杂的化学演化,后一阶段则是指在细胞出现以后,生物种类逐渐多样化和高级化的过程。

原始地球的原始大气是由一些还原性的简单气体所组成,如 H_2、CH_4、H_2O、CO、CO_2、NH_3 和 H_2S 等。这些简单气体在紫外线、雷电等能源作用下形成了简单的有机物,如氨基酸、核苷酸和单糖。S. Miller 等学者已在实验室的模拟原始地球环境条件

表 20－5 果蝇(*D. melanogaster*)和大肠杆菌(*E. coli*)基因组与酵母和人的线粒体基因组某些特点的比较(改引自 Avers, C.J. 1986)

特 点	果 蝇	大肠杆菌	酵母线粒体	人线粒体
基因组				
DNA 分子	线性 4 个双螺旋	环状 1 个双螺旋	环状 1 个双螺旋	环状 1 个双螺旋
基因间隔区	有	无	有	无
非编码的先导片段和尾随片段	有	有	有	无
终止密码子	有	有	有	有的基因无
内含子－外显子结构	有	无	有的基因有	无
转录				
启动区数	多个	多个	≥5 个	1 个
前体 mRNA	有	无	有	无
mRNA	由前体 mRNA 加工	直接转录	由前体 mRNA 加工	直接转录
多(A)尾	转录后加接	无	无	转录后加接
翻译				
核糖体大小	80S	70S	80S	55－60S
密码利用:				
UGA	终止密码子	终止密码子	Trp	Trp
AUA	Ile	Ile	Ile	Met
AGA	Arg	Arg	Arg	不用
AGG	Arg	Arg	不用	不用
CUN	Leu	Leu	Thr	Leu

下,成功地合成了许多种氨基酸。另外,有许多学者在模拟条件下,由简单有机物合成了多肽、核苷酸、多糖和脂类。这说明,这些复杂有机物有可能在原始地球的演化中自然产生。

在前生命化学进化过程中,RNA 世界说认为,简单有机物首先形成具有自我复制和催化功能的 RNA 催化剂,在适应性选择和 RNA 分子突变中,核糖在第二位脱氧生成脱氧核糖。经过一代又一代的调整, 遗传信息由 DNA 承载, 性状由蛋白质体现, RNA 起着遗传信息表达的中介作用。基于磷酰化氨基酸的核酸和蛋白质共起源学说认为, 在有核苷存在时磷酰化氨基酸自组装提供了一个能把蛋白质和核酸合成偶联起来的最小分子模型, 磷酰化氨基酸分子起着多种"原始酶"(转肽酶、连接酶等)作用。

关于复杂有机物怎样进化成细胞,许多学者认为是先形成分子团聚物实体,然后才进化出细胞。奥巴林提出了团聚体学说来解释细胞形成过程。团聚体是由有机物黏液小滴形成的,不同性质的团聚体表现出不同的特性。总的说来,这些特性包括有:对环境物质的选择性吸收, 吸收介质中的酶, 形成酶反应中心; 团聚体不断吸收环境物质, 在内部进行合成和分解反应; 在团聚体内单核苷酸可在酶作用下聚合成多核苷酸。Fox 则提出了微球学说,由类蛋白形成的微球具有形成膜结构、出芽、通透性等特

性。

团聚体和微球这样的形态实体，有些属性只是有点类似于细胞属性，但是却都不具备进行自我复制这一关键性的生命特征，因而它们是否是细胞产生的过渡性前体，还不能定论。

此外，有的学者主张，在外力作用下水表面上存在的脂类和蛋白质组成膜，可自然卷成膜泡，它是进化成细胞的结构基础。是否如此，亦有待研究。

我国学者贝时璋研究发现细胞可以利用生物体内的某些物质自行组建出来，从而发现“细胞重建”过程，并且认为，细胞重建可能是以前地球上细胞起源过程在现代生物体内的缩影。

在生物进化中，最先出现的是原核生物。根据化石分析，原核生物可能发生在30～40亿年前，此后逐渐进化出了真核生物(12～14亿年前)。

关于真核生物是由原核生物进化而来的见解，在学术界中比较一致。大家普遍赞同，真核细胞的细胞核是由祖先原核生物质膜内褶，将遗传物质包围起来形成的。可是，关于线粒体、叶绿体、中心粒和过氧化物酶体的进化来源问题却存在着截然不同的主张，并因此而分为内共生假说和进化假说两派。然而，越来越多的证据支持了内共生学说。

内共生假说主张，祖先原核细胞是厌气性的，具有内吞固体物的能力。祖先原核细胞吞入了好气性原核细胞，彼此建立了互利的内共生关系。宿主为内共生体提供了营养条件和保护环境，内共生体则为厌氧宿主提供了产能的有氧呼吸反应。当环境由无氧大气转变为有氧大气时，这种共生关系使宿主获得了极大的好处。mtDNA是内共生体遗传系统的遗留物。同样，现今的叶绿体和鞭毛也是分别由蓝细菌和螺旋体样原核生物内共生进化而来。叶绿体的祖先是蓝细菌和原核绿藻(*Prochlorophyte*)。

支持内共生假说的证据主要有：

(1)细菌、线粒体和叶绿体的基因组都是由裸露的环状双螺旋DNA分子所组成，没有膜把其与周围细胞质隔开。而真核细胞的基因组是由两个或多个线性DNA分子所组成，DNA与蛋白质结合成染色质。

(2)细菌、线粒体和叶绿体的核糖体的蛋白质合成均可受氯霉素的抑制，而真核细胞的蛋白质合成对这种抗菌素不敏感。反之，亚胺环己酮能抑制真核细胞核糖体的蛋白质合成，而对线粒体，叶绿体和细菌的核糖体的蛋白质合成无抑制效应。

(3)有氧呼吸和光合作用所需的酶存在于细胞器的膜上和基质中，细菌的同样也存在于质膜上和细胞质基质中。但真核细胞是靠其细胞器的呼吸和光合作用过程来满足自身的需要。

(4)叶绿体基因组和光合系统同有氧光合作用的原核生物极为相似。

目前看来，根据叶绿体和光合原核生物在生物化学和遗传系统方面的相似性，大家比较赞同叶绿体是内共生起源。

分隔假说对上述细胞器的起源持有相反的意见，它认为，叶绿体和线粒体是祖先原核生物细胞质中被膜分隔出来的部分。细胞DNA被包围到不同部分中，而产生了核、线粒体和叶绿体。线粒体DNA中含有例外密码子，其基因组有许多方面在不同物种中有显著差别，而且既不同于原核生物的，也不同于真核生物的。因此，目前对线粒体的起源问题尚有不同的见解。

复习思考题

1. 在生命起源和进化过程中化学进化与生物进化的关系如何?
2. Miller 实验的方案是怎样设计的? 有什么重要意义?
3. 如何评价生物大分子进化途径中的 RNA 世界说与核酸和蛋白质共起源学说?
4. 微球学说和团聚体学说的主要内容是什么?
5. 如何评价细胞重建理论?
6. 生命最根本的特征是什么? 你认为在生命起源过程中,形成什么样的结构才算是生命?
7. 如何评价真核生物起源的内共生假说和分隔假说?
8. 叶绿体可能起源于原核绿藻和蓝细菌的观点依据是什么?

主要参考文献

贝时璋主编, 1988. 细胞重建(第一集). 北京:科学出版社,1~188
李满文,贺福初,1995. 生命进化的分子历程, 科学,12:67~69
李　难,1984. 生物进化论,北京:高等教育出版社,25~64
李靖炎,1988. 真核细胞起源研究的进展,细胞生物学进展(第一卷). 北京:高等教育出版社,185~209
刘　瑞,1983. 对生物进化理论新发展的一点认识. 生物化学与生物物理进展,1:13~16
王谷岩,1994. 贝时璋与细胞重建学说. 科学,46(1):55~57
王亚辉,1998. 生命起源的现代探讨—基于磷酰化氨基酸的核酸和蛋白质共起源学说评述. 生命科学,3:111~114
翟中和主编,1995. 细胞生物学. 北京:高等教育出版社,374~385
邹承鲁,1981. 分子生物学的现状与展望. 生物化学与生物物理进展,2:1~10
朱　华,1991. 生命起源的一种假设. 科学,43(1):52~53
朱圣庚,1998. 进化分子生物学与进化工程. 科学,50(2):16~19
石国政弘,1980. 细胞器的起源和进化. 生物科学动态,2:60~69
Cech T. R., 1986. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 83, 4360
Christian de Duve, 1996. 复杂细胞的诞生. 科学,7:8~15
De Witt, W., 1977. Biology of the Cell, 4 th ed., W. B. Saunder Company, Philadelphia. 58~60
Dickerson, R. E. 1979. 化学进化与生命起源. 科学,11:27
Harry, F Noller, et al., 1992. Unusual Resistance of Peptdyl Transferase to Protein Extraction Procedures, Science, 256, 1417~1419
Harvey, l. 1999. Creatures from Another World, Nature, 400: 618~619
Horgan, J., 1996. 生命起源研究的新进展. 科学,5:68~69
Leslie E. orgel, 1995. 地球上生命的起源. 科学,2:33~39 16
Richard E. Lenski *et al.*, 1999. Genome Complexity, Robustness and Genetic Interactions in Digital Organisms, Nature, 400(6745): 661~664
Schoff, J. W., 1979. 原始细胞的进化. 科学,11:45
Zhao, Y. F. and P. S. Cao, 1996. Basic Models of Chemical Evolution of Life: The minimum evolving system. J. Chela-Flores and F. Raulin(eds), Chemical Evolution: physics of the Origin and Evolution of Life, Kluwer Academic Publishers, Netherland, 279~285

附录 Ⅰ

分子细胞生物学名词

acety1 coenzyme A(acety1 CoA) 乙酰辅酶 A

能量传递代谢过程中的高能中间产物;激活的乙酸连接到辅酶 A 上。

acrocentric 具近端着丝点的

表示着丝点靠近染色体的一端。

acrosome 顶体

精子头部盖在核前部的一个由膜包围的半月形小体，内含有透明质酸酶等水解酶，实系一特化的溶酶体。

actin 肌动蛋白

肌肉中的一种主要蛋白质;横纹肌的细丝和细胞微丝的主要蛋白质，与细胞运动有关。

actinin 辅肌动蛋白

与肌动蛋白结合的一种小的蛋白质,在横纹肌的 Z 线和应力纤维中比较集中,在将肌动蛋白丝横连在一起和使应力纤维与质膜结合中发挥作用。

Activin 激活素

为细胞间信号传递分子,系生长因子 TGFβ 超家族的成员，在脊椎动物中胚层诱导方面起重要作用。

activating enzyme(aminoacy1-tRNA synthetase) 活化酶(氨酰基 tRNA 合成酶)

催化 ATP 和特定氨基酸发生反应的酶。反应中形成氨酰基-腺苷酸-酶复合物,使该氨基酸被激活,被激活的氨基酸,可和一特定的 tRNA 结合,被带向合成蛋白质的核糖体上。

activation 激活作用

在活化酶的作用下，特定氨基酸和 ATP 发生反应,形成氨基-腺苷酸-酶复合物，从而被激活的作用。

active site (binding site) 活化部位(结合部位)

酶分子上和底物相结合的部位,结合后形成了酶-底物复合物。

active transport 主动运输

将分子向着高浓度方向穿膜的耗能运输。

actomyosin 肌动球蛋白

肌球蛋白和肌动蛋白的复合物,是肌肉收缩单元的蛋白质。

adaptin 衔接蛋白

在成笼蛋白与运载物受体间相连接的蛋白质，由多亚基组成的复合物，在捕捉结合运载物的受体和形成衣被小泡中发挥作用。

adenine 腺嘌呤

核酸中的一种碱基,是杂环化合物的衍生物。

adenosine(A) 腺嘌呤核苷(A)

核酸分子中含腺嘌呤的核糖核苷,在 DNA 分子中,它同胸腺嘧啶脱氧核苷配对;

在 RNA 中则与尿嘧啶核苷配对。

adenosine triphosphatase ATP 酶

能催化 ATP 分解成 ADP 和无机磷酸的酶。

adenine triphosphate (ATP) 腺苷三磷酸(ATP)

能量传递代谢中的一种高能中间产物;核糖核酸合成的前体物。

adenylyl cyclase (adenylate cyclase) 腺苷酰环化酶(腺苷酸环化酶)

催化 ATP 形成环形 AMP 的膜结合酶,是细胞内某些信号传递途径中的重要成分。

adherens junction 粘合连接

可将相邻细胞粘合在一起的细胞连接,连接处质膜的细胞质面结合有肌动蛋白丝。

aerobe 需氧微生物

生活在空气中,并利用氧的微生物。

A-kinase A 激酶

因细胞内 cAMP 浓度升高而被激活催化靶蛋白磷酸化的酶。

allele 等位基因

突变中原有核苷酸特定顺序发生了改变的基因,即一个基因几种突变形式之一。

alpha helix (α-helix) α 螺旋

蛋白质中的常见结构域,此结构域中的氨基酸序列折叠成右手螺旋型,并通过氢键保持稳定。

alternative splicing 选择(交替)剪接

前体 mRNA 经不同剪接方式,产生多种 mRNA,可被翻译成多种同工型蛋白质。

amino acid 氨基酸

蛋白质的基本构件;带有一个或两个以上 NH_2 基的羧酸。

amino acid sequence 氨基酸序列

某种多肽或蛋白质分子中氨基酸成分的特定排列顺序。

amino acyl tRNA 氨酰基 tRNA

参加蛋白质合成的氨基酸的激活形式,由氨基酸的羰基通过一不稳定的酯键与 tRNA 的羟基结合所构成。

aminoacy1-tRNA synthetase 氨酰基-tRNA 合成酶

为一类酶,其中每一种酶可将一定的氨基酸激活成氨酰基形式,并使氨酰基连接到特定的 tRNA 载体上。

amphipathic 双性的

立体构型分为亲水区(极性区)和疏水区(非极性区)的分子。

amyloplast 造粉体

植物贮藏组织细胞中含淀粉颗粒的无色质体。

anaphase 后期

有丝分裂(或减数分裂)过程中的一个阶段,在此阶段中染色体向细胞两极移动;纺锤体有所延长。

anaplerotic reaction 回补反应

为另一代谢途径补充消耗的中间产物的反应。

aneuploidy 非整倍性

比正常染色体数多了或少了一个或几个染色体。

antenna complex 天线复合物

为叶绿体光系统的主要组成部分之一,可将吸收的光能传递给光反应中心。

antennapedia complex 触角足复合物

昆虫中对胸部和头部体节的发育具有调节作用的基因群。

anticodon 反密码子

tRNA分子中反密码环上的特定核苷酸三联体,在翻译过程中,这一三联体和mRNA中特定三联体(密码子)形成互补碱基配对。

antigen 抗原

可引起免疫反应而被抗体所识别,并与之专一结合的分子。

antiport 反(对)向运输

膜载体将两种不同的小分子同时或依次向相反的方向穿膜运输。

antisense RNA 反义RNA

与一基因的专一RNA转录本互补的RNA,可同此专一的RNA杂交。

apoptosis (细胞)凋亡

即程序性细胞死亡(programmed cell death),为非坏死性的细胞死亡,细胞分解成凋亡小体,被邻近的细胞吞噬。

apoenzyme 脱辅基酶蛋白

含有非蛋白质的辅酶或辅基的全酶脱掉辅酶或辅基后的蛋白质成分。

aster 星体

动物细胞在有丝分裂时,细胞两极围绕着一对中心粒形成辐射微管结构。

A-site A部位(受体部位)

核糖体接受氨酰基-tRNA的部位。

ATP synthase ATP合成酶

存在于线粒体内膜、叶绿体类囊体膜和细菌质膜上的酶复合物,在氧化磷酸化和光合磷酸化作用中催化ADP和无机磷酸合成ATP。

autophagosome 自噬小体

溶酶体包有细胞自身一部分进行消化的小体。

autoradiography 放射自显术

利用放射性原子发射的射线能使照像乳胶感光的作用,对生物标本中放射性标记物进行定位和定量测定的方法。通常是将吸收了放射性物质的生物标本,制成切片,涂上照像乳胶薄膜,经曝光、显影、定影后,在光学或电子显微镜下观察。

autosome 常染色体

除性染色体以外的其他染色体。

auxin 植物生长素

一种植物激素。

axoneme 轴丝

纤毛和鞭毛中由微管构成的中轴部分。

bacterium 细菌

各类原核生物的通称。绝大多数为单细胞生活,但也有以多细胞形式存在。

bacteriophage (phage) 噬菌体

以细菌为寄主进行复制的病毒。

bacteriorhodopsin 细菌紫质

嗜盐细菌质膜中的色素蛋白。

Barr body 巴氏小体

哺乳动物雌性体细胞在分裂间期核中凝缩不活动的 X 染色体。为 M·Barr 所发现。

basal body (basal granule) 基体

纤毛和鞭毛在质膜下方的基部结构。为一中心粒。

basal lamina 基膜

上皮细胞层和几种细胞(如肌细胞、脂肪细胞)与结缔组织之间相隔的细胞外基质垫。

basal plate 基板

纤毛基部相当于质膜水平处的一层浓密物质。

base pair 碱基对

DNA 双螺旋结构中,通过氢键结合,一条多核苷酸链中的碱基和另一条链的碱基相互配对,碱基的配对关系是固定的,总是腺嘌呤配胸腺嘧啶,鸟嘌呤配胞嘧啶。

bioenergetics 生物能学

热力学在生物学中的应用所形成的一门学科。

biogenesis 生物发生

由活机体或活细胞产生出新的个体或结构。

biotechnology 生物工程

生物学原理和应用技术科学相结合生产有经济价值的产品的科学。

blastomere (分)裂球

受精卵分裂形成的细胞。

blastula 囊胚

后生动物在早期胚胎发育过程中形成的中空球形胚体,是胚胎发育的一个阶段。

B lymphocyte B 淋巴细胞

在抗原刺激下具有分泌抗体球蛋白能力的淋巴细胞。

bivalent 二价染色体

减数分裂 I 中联会了的同源染色体对。

brush border 刷状缘

小肠和肾上皮细胞顶面伸出的密集微绒毛。

buoyant density 浮力密度

分子的密度。在超离心中通过氯化铯密度梯度沉降平衡法进行测定,单位为 g/ml。

C-banding C 分带

染色体经 Giemsa 染色分带后,显示出异染色质部位的分带方法。

C_3 cycle C_3 循环

光合作用中的暗反应部分, CO_2 经一 3 碳中间产物(3-磷酸甘油酸)被还原成碳水化合物,也称卡尔文氏循环(Calvin′s cycle)。

C_4 cycle C_4 循环

没有光呼吸的植物行光合作用时的一条还原 CO_2 的附属途径。亦称为 Hatch-Slack 途径。

Calmodulin(CaM) 钙调蛋白(素)

广泛存在于真核细胞中的一种结合钙蛋白,分子结合 Ca^{2+} 后可发生构象变化,暴露出疏水区。钙调蛋白因细胞质溶质中的 Ca^{2+} 浓度不同而得以与不同的蛋白

质(Ca^{2+} – 钙调蛋白的靶蛋白)相互作用,调节细胞的活动,如改变靶酶和质膜运输蛋白的活性。

cancer cell　癌细胞

失去控制恶性增殖的细胞。

capsid　衣壳

由衣粒(capsomere)亚单位构成的病毒外壳。

capsomere　衣壳粒

病毒衣壳的蛋白质亚单位。

carcinogen　致癌因素(物)

能诱发细胞癌变的物理和化学因素。

carotenoid　类胡萝卜素

一种脂溶性的光合作用色素,呈黄红色。

carrier protein　载体蛋白

膜内的运输蛋白,可同穿膜运输的分子行暂时性结合。

catalyst　催化剂

不改变化学反应平衡点(equilibrium point)而调节反应速率的化学物质。

cDNA (complementary DNA)互补　**DNA(cDNA)**

通过反转录酶催化由一种 RNA 病毒转录产生的 DNA;与 mRNA 互补的 DNA。

cell　细胞

能进行独立繁殖的有膜包围的最小原生质团。

cell coat　细胞外被

一般指动物细胞外表由糖蛋白构成的绒絮状物质,又称糖萼(glycocalyx)。广义上,也可指各种细胞的质膜外由糖类物质组成的结构,亦可包括植物细胞壁。

cell culture　细胞培养

细胞的体外人工培养。

cell cycle　细胞周期

分裂细胞由有丝分裂末尾到第二次有丝分裂末尾的顺序变化。在两次相邻的有丝分裂间期又分为 G_1、S、G_2 三期。

cell differentiation　细胞分化

细胞的后代在结构和功能上发生差异,形成不同细胞的过程。分化细胞获得并保持特化特征,合成专一性的蛋白质。

cell division　细胞分裂

一个细胞分成两个各含一个核的子细胞的变化。

cell electrophoresis　细胞电泳

细胞在电场作用下,在溶液中的泳动。

cell fusion　细胞融合

又称细胞杂交,在实验条件下将不同的体细胞合成一个杂交细胞。利用某些病毒(如 Sendai virus)、聚乙二醇(PEG)、电脉冲或激光做媒介,可人工诱发细胞融合。

cell line　细胞系

在培养条件下可进行无限分裂的动物或植物细胞群。

cell membrane　细胞膜

过去称细胞表面的膜为细胞膜,现称为质膜。具有暗 – 明 – 暗三层式结构,系一单

位膜。

cell plate　细胞板

高等植物细胞分裂过程中,新的细胞壁物质在细胞中央集中并逐渐向细胞边周延伸所形成半固体的板状物,它是细胞壁的前体。

cell strain　细胞株

通过选择法或克隆形成法从原代培养物或细胞系中获得的具有特定性质或标志(marker)的培养物称为细胞株。细胞株的特定性质或标志必须在整个培养期间始终保持。

cell surface　细胞表面

细胞质膜外表面结构的总称。

cell theory　细胞学说

由 Schleiden 和 Schwann 于 1838～1839 年提出的基本学说,其主要内容是:一切动、植物均由细胞构成;细胞是多细胞有机体的最小构成成分;细胞只能由细胞分裂而来。

cell wall　细胞壁

包围在植物、藻类、真菌和原核细胞质膜外面的硬性结构。

central dogma　中心法则

关于 DNA、RNA 和蛋白质之间在信息传递方面相互关系的概念。DNA 可做自身复制和 RNA 转录的模板,由 RNA 再翻译成蛋白质。遗传信息传递的方向应是DNA→RNA→蛋白质。

centriole　中心粒

动物细胞中由 9 组小管(每组三条)围成的圆筒状细胞器。两颗中心粒在一端相互垂直。在分裂间期中位于核的一侧。细胞分裂时逐渐移向两极,与组建有丝分裂器有关。

centromere　着丝粒

染色体上同纺锤丝间接相连的区域,着丝粒区 DNA 为高度重复序列。

centrosome　中心体

动物细胞中位于中央的细胞器,由中心粒和中心粒周物质构成。

cesium chloride centrifugation　氯化铯离心

密度梯度离心之一种,基本方法是,先将一定浓度的氯化铯溶液加入离心管中,再在溶液面上加上一层待分离分子的混合物。经离心,氯化铯溶液形成了连续密度梯度,从而使浮力密度不同的分子分别沉降到各自相当的密度处,得以分离。

channel protein　通道蛋白

在膜中形成一条窄的穿膜亲水孔的蛋白质,可允许水和小分子被动穿过。

chaperone　分子伴侣

协助其他蛋白质分子肽链正确折叠的蛋白质。

chaperonin　伴侣蛋白

即 GroEL,在大肠杆菌中的 Hsp60 称为 GroEL。

checkpoint　监控点

在细胞周期中可使细胞暂时刹车的位点,待条件适宜时才允许细胞进入下一阶段。

chemiosmotic coupling theory　化学渗透偶联学说

主张在氧化磷酸化和光合磷酸化过程中合成 ATP 时是利用了跨膜 H^+ 浓度梯度

势能。

chiasma　交叉

二价染色体的两条非姊妹染色单体间发生互换的交叉点。最早出现在双线期。

chlorophyll　叶绿素

光合作用的主要捕光色素，位于叶绿体类囊体膜内和原核生物行光合作用的褶叠膜内。叶绿素是叶绿素 a 和叶绿素 b 两种色素的混合物。

chloroplast　叶绿体

植物细胞中由双层膜围成，含有叶绿素能进行光合作用的细胞器。

cholesterol　胆固醇

动物细胞膜中的一种主要的脂类成分。

chromatid　染色单体

复制了的染色体中的两条子链。两条染色单体在着丝粒处相连在一起。

chromatin　染色质

真核细胞在间期中，核中由 DNA 和组蛋白构成脱氧核糖核蛋白复合物，常结合有非组蛋白和少量 RNA。染色质亦可称为间期染色体（interphase chromosome）。

chromatin fiber　染色质丝

电镜下所见到的染色质的基本结构单位，粗约 30nm，是由线性 DNA 双螺旋和组蛋白、非组蛋白、少量 RNA 以及同 DNA、RNA 合成有关的酶构成的复合物。

chromatosome　染色质小体

由核小体核心和延长的 DNA 片段结合上 H_1 组蛋白所形成的球形小体。DNA 在小体上绕了两圈，长约 165 个碱基对。

chromomere　染色粒

有丝分裂前期染色体上的珠状结构区。

chromosome　染色体

真核生物细胞核中含基因的结构，通常多指有丝分裂过程中由染色质凝缩形成的丝状或棒状小体。有时也指原核生物和病毒中具有遗传编码的核酸分子。

cilium　纤毛

分散在纤毛虫表面和多细胞生物纤毛上皮细胞游离面的细毛状可摆动的细胞器。每一纤毛基部为一中心粒（基体）。

cis　顺面

部位的近侧，如高尔基体的顺面。

cisterna　潴泡

充有液体内含物由膜围成的扁形囊腔，如内质网池、核围池。

classical hypothesis　经典假说

关于真核细胞起源的一种假说，该学说主张，真核细胞是由原始原核细胞通过有利突变的选择而逐渐进化产生，主要细胞器如核、线粒体、叶绿体是由原始原核细胞的质膜内褶进化而来。

clathrin　成笼蛋白

构成衣被小泡衣被的主要蛋白质，分子呈三分枝状，*Mr* 为 180 000，在衣被小泡形成时，装配成笼状结构，起支持网架作用。

clone　克隆（无性系）

由一个共同亲代细胞或有机体通过有丝分裂所产生的具有同一遗传性的一群细

胞或有机体；由一个分子或一个分子片段为模板重复复制产生一群副本（模制），如 DNA 克隆。此词可作为名词使用，亦可作为动词甚至形容词使用。

coat 外被

细胞质膜外表被覆的糖蛋白物质，亦称糖萼。也可指动物病毒的外膜。

coat protein 外壳蛋白

病毒外壳的结构蛋白。

coated vesicle 衣(有)被小泡

细胞质中外表(细胞质面)包被有毛刺状衣被的小泡，直径约 50～250nm。衣被的成分为成笼蛋白和小的多肽。衣被小泡是由质膜内陷或内膜出芽形成，在细胞内吞或胞内大分子运输方面起重要作用。

co-chaperonin 辅伴侣蛋白

即 GroES。

codon 密码子

DNA 和 mRNA 中对应一种氨基酸的核苷酸三联体，在转译过程中决定一种氨基酸插入到生长中的多肽链的特定位置。

coenzyme 辅酶

全酶中的非蛋白质性的小有机分子，可和全酶的蛋白质结合，使全酶具有活性。

coenzyme A(CoA) 辅酶 A

是参加能量传递反应的小有机分子，由 ADP、泛酸和硫基乙胺组成的一种辅酶，通常是作为激活的代谢产物（如乙酸)的载体，乙酰辅酶 A 在柠檬酸循环中起着关键性的作用。

cofactor 辅因子

酶蛋白要催化一定反应所需要添加上的因子，如辅酶或金属离子。

colchicine 秋水仙素

为一种生物碱，有抑制微管装配的作用。

co-linearity 共线性

DNA 的密码子的核苷酸顺序与密码子决定的多肽链的氨基酸顺序在位置上的对应关系。

collagen 胶原

富含甘氨酸和脯氨酸的纤维蛋白，是动物组织中细胞外基质的主要成分。

compartmental hypothesis 分隔假说

即关于真核细胞起源的经典学说(classical theory)，也称进化学说(evolutionary theory)。

complementary base pairing 互补碱基配对

核酸中一定嘌呤和一定嘧啶通过氢键的相互作用，例如，鸟嘌呤对胞嘧啶，腺嘌呤对胸腺嘧啶或尿嘧啶。

concanovalin A(Con A) 伴刀豆素 A

从刀豆中提纯出的一种可使动物细胞凝集的球蛋白，也有促进有丝分裂作用。

configuration 构型

分子中原子的特定空间排列，改变构型需要打开或形成共价键。

conformation 构象

分子中原子因绕一个键旋转而形成的空间排列，构象改变不改变分子的共价键结

构。

connexon　连接子

缝隙连接中形成细胞间交通结构的基本单元，由质膜中的整合蛋白围成，呈六角形，中央有隧道。

constitutive　恒定的

国内多译为“组成的”，在生物学中此译意不够准确，缺少汉语以词寓意的特点，故不易理解。实际上，在生物学中，“constitutive”多作“constant”的同义词使用，生物学中常代表恒定不变之意。例如 constitutive enzyme(恒定酶)是指不受调节的，合成速率恒定的酶，是与可调节酶(可诱导酶和可阻遏酶)相对的一类酶。又如 constitutive heterochromatin(恒定型异染色质)，是指在细胞周期中一直处于浓缩不变状态的核染色质。

constitutive heterochromatin　恒定型异染色质

一直处于凝缩状态，遗传上稳定，复制较晚的染色质，如着丝粒区染色质。

contact inhibition　接触抑制

多细胞生物的细胞进行体外培养时，分散贴壁生长的细胞一旦相互汇合接触，即停止移动和生长的现象。

contractile ring　收缩环

细胞分裂后期和末期细胞质分裂时，在分裂沟的质膜下面由微丝构成的一个绕细胞连续环。收缩环的微丝和质膜相连，环的收缩使分裂沟继续深陷，最后分裂为两个细胞。

co-repressor　辅阻遏物

可和阻遏物结合激活阻遏物的代谢产物，能封阻为某种可阻遏酶编码的 mRNA 的转录。

co-transport(coupled transport)　共运输(偶联运输)

一种分子的穿膜运输依赖于另一种分子的同时或先后穿膜运输，包括同向运输和反向运输。

coupling factor　偶联因子

线粒体内膜上的颗粒亚单位的头段。具有 ATP 酶活性，在氧化磷酸化和电子传递的偶联过程中，它是线粒体 ATP 合成的催化剂，亦即 F_1 因子。

covalent bond　共价键

共价化合物中，原子间共用壳电子所形成的价键。

cristae　嵴

线粒体内膜向基质中突出的内褶物。上面有电子传递链复合物以及将氧化磷酸化和电子传递相偶联的酶复合物(F_1-F_0 偶联因子)。

crossing over　交换

同源染色体间的片段交换，引起连锁的基因重组。

CURL　CURL 区

内体中受体与配体解偶联的部分。

cyanobacteria(*Cyanophyta*)　蓝细菌

过去称为蓝藻(blue-green algae)。系不动的单细胞生物，细胞质中含有光合膜。

cyclic adenine (cAMP)　环形腺苷磷酸(cAMP)

有的激素作用于靶细胞后，在腺苷酸环化酶的催化下，ATP 形成的腺苷 3′，5′-

环状一磷酸分子。cAMP 起信号传递分子的作用，可激活 A 激酶，调节代谢，故有第二信使之称。

cyclin 周期蛋白

在真核细胞分裂周期中浓度有规律地升高和降低的蛋白质，此蛋白可激活周期蛋白依赖蛋白质激酶，从而调控细胞周期阶段的前进变化。

cyclin-dependent protein kinase(Cdk protein) 周期蛋白依赖蛋白质激酶

可与周期蛋白结合成复合物发挥作用的蛋白质激酶，不同的 Cdk－周期蛋白复合物通过使专一靶蛋白磷酸化的方式而启动细胞分裂周期的不同阶段。

cycloheximide 亚胺环已酮(放线菌酮)

由淡灰链丝菌(*Streptomyces griseus*)合成的抗生素，对真核细胞细胞质核糖体的蛋白质合成和核分裂有抑制作用，而对原核细胞无作用。

cyclosis 胞质环流

植物细胞中原生质沿环形路线缓慢流动的现象。

cytochalasin B 细胞松弛素 B

为真菌的代谢产物，具有专一破坏细胞质微丝和收缩环的作用，故能抑制细胞分裂和引起细胞排核。

cytochrome 细胞色素

含有血红素和有关辅基成分(铁原子价可改变)的电子传递酶。

cytochrome oxidase 细胞色素氧化酶

即细胞色素 $a \sim a_3$，是有氧呼吸链末端的酶，具有质子泵的作用，可将 H^+ 由基质抽提到膜间隙，同时可通过血红素中铁原子的氧化还原变化，把电子传递给还原的氧，形成了水。

cytogenetics 细胞遗传学

把细胞学和遗传学结合起来研究生物现象的科学。通常是指主要研究染色体的遗传作用。

cytokine 细胞因子

动物受感染后产生的一类信号传递蛋白或肽物质，在功能上类似于激素，在细胞通讯中起局部介体作用，由一个细胞产生刺激另外的细胞发生反应。细胞因子包括有干扰素、白细胞介素和肿瘤坏死因子等。

cytokinin 细胞分裂素

调节植物细胞生长和发育的一个小分子家族。

cytokinesis 细胞质分裂

细胞分裂过程中，继核分裂之后发生的细胞质分裂，从而形成两个子细胞。

cytology 细胞学

研究细胞的结构、功能和生活史的科学。

cytoplasm 细胞质

细胞在核以外质膜以内的原生质。

cytoplast 胞质体

细胞经处理(如用细胞松弛素 B 处理)排核后剩下的细胞质部分，包有细胞膜。

cytosis 吞排作用

动物细胞内吞作用和外排作用的统称。

cytoskeleton 细胞骨架

细胞中的纤维状结构,如微管、微丝和中间丝等,亦包括核骨架。

cytosol　细胞质溶质(细胞质基质)

即细胞质基质,除了膜性细胞器以外的细胞质液相部分,可发生溶胶与凝胶态的变化。又称细胞质溶胶。

dalton　道尔顿

分子量的质量单位,为碳 12(^{12}C)原子质量的十二分之一,约等于 1.67×10^{-24}g。

dark reaction　暗反应

光合作用中将 CO_2 还原成碳水化合物的阶段,反应不需光能。

daughter cell　子细胞

由一个细胞分裂成的两个细胞。

deletion　缺失

染色体组中的染色体或 DNA 分子发生部分丢失的现象。

denaturation　变性

蛋白质和核酸的二级或(和)三级结构的改变和破坏导致功能丧失的变化。

deoxyribonucleic acid(DNA)　脱氧核糖核酸(DNA)

由脱氧核糖核苷酸构成的聚合物,是携带遗传信息的遗传物质。

deoxyribonucleotide　脱氧核糖核苷酸

由嘌呤或嘧啶碱基结合上脱氧核糖,再结合上磷酸所组成的化合物。

deoxyribose　脱氧核糖

构成 DNA 的戊糖。

desmosome　桥粒

相邻动物细胞间的一种连接结构,使细胞相粘贴,结构处质膜下有 10nm 粗的　张力丝。

detergent　去垢剂

具有亲水头和疏水尾的表面活性剂,常用于提取膜蛋白和其他疏水性分子。

determination　决定

胚胎细胞限定向特定方向分化。

diakinesis　终变期

减数分裂前期 I 的最后一个阶段。

dictyosome　高尔基网体(分散高尔基体)

高尔基复合体中的一摞潴泡(池)。

differentiation　分化

细胞向特化方向变化的过程。

diploid　二倍体(2n)

核内含有相同的两套染色体的细胞或个体。

diplotene　双线期

减数分裂前期 I 的一个阶段,这时联会的染色体分开,只在交叉(chiasma)部位相连。

D-loop synthesis　D 环式合成

线粒体 DNA 的复制方式,复制时,两条亲链分先后进行复制。亲链解链时,形成一置换(D)环。

DNA duplex　DNA 双螺旋

DNA 多核苷酸的双链螺旋结构。

DNA ligase DNA 连接酶

催化 DNA 链片段连接起来的酶,能使相邻的核苷酸在 3′-OH 基和 5′-磷酸基间形成磷酸二酯键。

DNA polymerase DNA 聚合酶

催化 DNA 合成反应的酶。原核生物中为 DNA 聚合酶Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ;真核生物中为 α、β 和 γ、δ 和 ε 五种。

DNase DNA 酶

水解 DNA 的酶。

domain 功能域

蛋白质中具有一定的三级结构的区域,往往具有特定的功能。

duplication 重复

染色体畸变的一种类型,基因组发生部分重复加倍现象。

dyad 二分体

复制后含两条染色单体的染色体。

dynein 动力蛋白

沿微管运动的一种摩托蛋白,具有 ATP 酶活性。存在于纤毛和鞭毛结构中外周二联体 A 微管和纺锤体微管等处。可利用水解 ATP 提供的能量沿微管向微管的正端移动。

effector 效应物

(1) 具有调节作用的物质或代谢产物,是诱导物和阻遏物的统称。通过激活或抑制阻遏物分子来影响阻遏物同操纵基因的结合。(2)可改变酶和底物亲合力的代谢产物。

elastic fiber 弹性纤维

由弹性蛋白组成的细胞外基质纤维,具有高度弹性。

elastin 弹性蛋白

动物结缔组织中的一种主要的结构蛋白,具有弹性。

electrochemical gradient 电化学梯度

膜两侧的离子浓度差和电荷差,二者的复合作用是影响离子跨膜运动的驱动力。

electron acceptor 电子受体

容易接受电子的原子或分子。

electron carrier 电子载体

可反复得失电子的酶,如黄素蛋白、细胞色素等。

electron dense 密电子

电镜观察标本上有的区域不同程度地阻止电子透过而显示出的致密区。高电子密度即表明大分子浓度高或结合了重金属(Os、Mn、Pb、U)固定剂或染色剂。

electron donor 电子供体

经氧化提供电子的分子。

electron transport chain 电子传递链

由供体到受体进行电子传递的一组电子载体,链上每一步都伴随有能量的释放。

electrophoresis 电泳

分子、物质颗粒或细胞在电场中的泳动。根据大分子或颗粒的电荷、大小和形状不

同，使其在通过电场中的胶体或介质时发生分离的方法。

embryogenesis　胚胎发生

胚胎由受精卵发育的过程。

emulsion　乳胶

一种液体中悬浮有液体小滴的稳定悬液，如核子乳胶是在放射自显术中使用的乳胶。

endergonic reaction　吸能反应

反应物形成产物之前，需要外界输入一定能量的反应。

endocytosis　(细胞)内吞作用

细胞用部分膜将胞外物质(液体和固体颗粒)包围起来，摄入胞内的过程。

endomembrane system　内膜系统

真核细胞内具有形态连续性的各种膜，每一种膜都是单一膜系统的一个分化区，如内质网膜、核膜和高尔基膜。线粒体和叶绿体膜除外。

endonuclease　核酸内切酶

可打开 DNA 分子内的磷酸二酯键的酶。

endoplasmic reticulum (ER)　内质网

真核细胞细胞质内广泛分布的膜片层囊，与蛋白质的合成和运输有关。膜囊外表面上结合有核糖体的称糙面内质网；无核糖体的称为光面内质网，后者为管形结构。

endopolyploidy　核内多倍体

染色体复制后，未分配到不同核中而造成一个核内含有多组染色体的现象。

endosome　内体

动物细胞中的膜围细胞器，含有通过内吞作用新吞入的物质，随之将物质输送到溶酶体进行降解。

endosymbiosis　内共生现象

共生体在宿主体内生活，而对宿主无害的互相生存关系。真核细胞起源的内共生学说，即认为真核细胞是由原始原核细胞共生进化来的。

endothermic reaction　吸热反应

吸收热量进行的反应。

endproduct repression　最终产物阻遏

一种代谢途径的控制机制，当代谢途径的最终产物存在时，就抑制代谢途径所需酶的合成，从而中止途径进一步反应。

enucleation　去核

用人工方法使细胞脱核的作用。

enzyme　酶

具有催化作用的蛋白质。酶具有专一性，每种酶可催化特定的化学反应。

enzyme induction　酶诱导

细胞中在底物影响下进行特定酶合成的作用。

enzyme repression　酶阻遏

细胞中受反应最终产物的影响而中止特定酶合成的作用。

equilibrium density gradient centrifugation　平衡密度梯度离心

分离大分子和细胞成分的离心方法。经离心，大分子或颗粒沉降到溶剂梯度的平

衡区,在平衡区里大分子(或颗粒)的浮力密度与溶剂密度一致。

ergastoplasm 动质(见 kinoplasm)

euchromatin 常染色质

间期核中不凝缩的处于松展状态的染色质。

eukaryote 真核生物

由具有核膜围成的真正细胞核的细胞构成的生物体。

exergonic reaction 放能反应

自然发生的向环境释放能量的反应。

exocytosis 胞吐(外排)作用

细胞内由膜包围的小泡与质膜融合,然后质膜开口,小泡内物质排到细胞外的作用。

exonuclease 核酸外切酶

能将 DNA 分子从一端水解产生单核苷酸的酶。

exoskeletal factor 细胞外骨架因子

细胞质膜外表面的附属成分,如糖蛋白,即细胞外被。

exon 外显子

真核生物 DNA 中为 mRNA 核苷酸序列编码的片段。

extein 外显肽

翻译后肽链经剪接形成成熟蛋白的部分。

F_0 factor F_0 因子

存在于线粒体内膜上 F_1-F_0 偶联因子之膜部,对寡霉素(oligomycin)敏感,符号中之"0"即表示 oligomycin 之意。

F_1 coupling factor F_1 偶联因子

存在于线粒体嵴 M 面上的颗粒结构,系 F_1-F_0 偶联因子之一部,具有 ATP 酶活性。

faciliated diffusion 协助扩散

有载体分子协助的分子穿膜被动运输(顺浓度梯度扩散)。当分子浓度达到一定限度时,浓度再增加,扩散速率亦不能再提高。

feed back 反馈

过程的结果影响过程的进行的现象。

feedback inhibition 反馈抑制

调节酶活动的一种控制机制。其作用原理是,最终产物抑制了酶系列(往往是系列中的第一种酶)的活性,从而使酶系列中断,不再产生最终产物。

fermentation 发酵

碳水化合物在无氧途径中的氧化,通常是指细菌和酵母在无氧条件下发生糖的酶促产能分解。

fertilization 受精

雄配子和雌配子融合形成二倍体合子的过程。

Feulgen reaction 孚尔根反应

专一显示 DNA 的一种染色法,标本经水解去掉 RNA 后,DNA 的嘌呤－脱氧核糖糖苷键中的嘌呤被酸水解,暴露出了脱氧核糖的醛基,游离的醛基同 Schiff′s 试剂反应,呈现紫红色。

fiber 纤维

由原纤维组成的线状结构，如肌纤维、神经纤维、胶原纤维。

fibril 原纤维

组成纤维的亚级线状结构，如肌原纤维、神经原纤维、胶原原纤维。

filament 丝

组成原纤维的亚级线状结构，一般由分子链直接形成，如肌丝、神经丝、中间丝。

first low of thermodynamics 热力学第一定律

能量守恒原理，说明能量既不能产生也不能消失。

fixation 固定

为长期保存生物标本，使之不发生变质的处理。制作显微切片时，为保持生物结构的原样和便于染色，第一步要进行这种处理。

flagellin 鞭毛素

构成细菌鞭毛的主要蛋白质成分，单体的分子量为 20 000～40 000。在适当 pH 值下，鞭毛素可自我装配成纤丝。

flagellum 鞭毛

鞭毛虫和精子的鞭状延伸物，由中心粒长出，具有与纤毛相同的结构，但要长得多，其功能是推动细胞运动。

flavin adenine dinucleotide (FAD) 黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)

由核黄素、磷酸和腺苷组成的辅酶，是呼吸链中传递电子的电子载体分子，其氧化还原偶联的还原形式为 $FADH_2$。

fluid mosaic model 流动镶嵌模型

关于细胞膜结构的一种模型。这一模型认为，磷脂双层分子构成膜的网架，蛋白质分子镶嵌在网格中和脂双层表面上，脂双层黏稠度较低，可流动，膜内颗粒也可以移动。

fluorescein 荧光素

在蓝光或紫外线照射下发出绿色荧光的荧光染料。

fluorescent antibody technique 荧光抗体技术

对细胞内特定抗原进行定位的技术。其方法是用结合上荧光素的专一抗体对组织或细胞进行处理，以荧光作为显示标志。

fluorescent dye 荧光染料

吸收一定波长的光发射出较长波长的光的分子。

formylmethiony1-tRNA(fmet-tRNA) 甲酰甲硫氨酰 tRNA

多肽链合成开始时，将第一个氨基酸(甲酰甲硫氨酸)带向核糖体的 tRNA。

free diffusion 自由扩散

分子由高浓度区向低浓度区的自行扩散。亦称简单扩散。

free energy 自由能

一种系统的总能量中可做功的部分。

freeze fracture technique 冰冻断裂技术

通过速冻和切成断裂面为电镜观察制备标本的方法。在观察之前采用物理法将暴露出的断裂面制成复膜(replica)，制备复膜之前也要将断裂面进行真空升华蚀刻(etch)，故此法又称冰冻蚀刻。用此法可制作供观察膜表面或膜内部结构的标本。又称冰冻蚀刻技术。

furrowing 沟陷

动物细胞分裂时，在赤道部位的表面上发生一圈凹陷，称为分裂沟，沟逐渐深陷，最后将细胞分为两个子细胞。

g (gravity) 地心引力

用来表明离心力的单位。例如 2000g 即表示沉降力为地心引力的 2000 倍。

G_0 phase G_0 期

暂时脱离细胞周期的细胞，处于静息状态的时期。待条件适宜时可重新进入 G_1 期，参加细胞周期循环。

G_1 phase G_1 期

真核细胞分裂周期中介于胞质分裂结束到 DNA 合成开始之间的一个阶段，相当于细胞生长期。

G-banding G 分带

染色体分带的一种方法，经 Giemsa 染色后，染色体上在浅染区间显示出深染带。

γ-tubulin ring γ 微管蛋白环

中心体基质中由 γ 微管蛋白构成的环状结构，是细胞中微管生长的起始点。

gamete 配子

单倍体性细胞。

gap junction 间隙连结

相邻动物细胞的质膜间形成的一种连接结构，由许多连接子(connexon)单元组成，可行细胞间通讯。

gastrula 原肠胚

动物早期胚胎继囊胚之后的一个发育阶段，在此阶段中细胞内陷形成肠原基。

gastrulation 原肠作用

原肠胚形成肠原基的变化过程。

gene 基因

遗传功能单位，即 DNA 分子中负载遗传信息的特定核苷酸序列。

gene amplification 基因扩增

仅某些基因复制成多套副本，而染色体组的其他基因不复制。

gene expression 基因表达

通过转录和翻译过程编码于 DNA 分子中的遗传指令的解读，从而使细胞或个体的表型得以表现。

gene regulation protein 基因调节蛋白

可同基因中的专一序列结合，从而影响基因表达的蛋白质。

genetic code 遗传密码

携带蛋白质合成遗传信息的 DNA 和 mRNA 的碱基三联体。

general transcription factor 通用转录因子

对大多数真核生物基因起始转录时，需要在 TATA 框等处装配的转录因子(蛋白质)。

genome 基因组

一种生物的基本染色体套中所携带的全部基因，即单倍体中所含的全部基因。在原核生物中即是一个连锁群中所含的全部遗传信息。

genophore 基因带

病毒和原核生物的染色体等同物。

germ cell　生殖(性)细胞

产生配子的前体细胞。

germ line　种系

生殖细胞谱系。

germ plasm　生殖质

系 A. Weismann 于 1883 年首先创用的名词,原指具有一定化学组成能决定遗传性的遗传物质,可通过生殖细胞一代代传递下去,实际上即是指染色体。现在则是指在某些动物种类的卵母细胞中合成的性细胞决定子。受精卵进行卵裂过程中,获得生殖质的细胞将分化为生殖细胞。

ghost　血影

溶血后失去细胞质的红细胞外壳(细胞膜)。

globin　珠蛋白

血红蛋白和肌红蛋白中与铁卟啉基结合的多肽链,具有载氧的功能。

globular protein　球形蛋白质

大致呈球形结构的任何蛋白质,相对于纤维蛋白(如胶原)。

globulin　球蛋白

不溶于水或微溶于水的简单球形蛋白,可被 50% 的硫酸铵饱和液所沉淀。

glycocalyx　糖萼

覆盖在细胞膜外围的糖蛋白和多糖类物质,即细胞外被。

glycogen　糖原

动物细胞中由葡萄糖单元构成的贮存多糖,亦称动物淀粉,肝细胞和肌细胞中含量丰富。

glycophorin　血型蛋白

存在于哺乳动物红细胞膜中的一种整合蛋白,与决定一定的血型有关。

glycoprotein　糖蛋白

结合有一个或几个糖基的复合蛋白,是质膜的重要成分。

glycosylation　糖基化

糖基连接到蛋白质天冬氨酸残基上的作用。

glyoxysome　乙醛酸循环体

为植物细胞中所特有的一种细胞器,和贮藏脂类的代谢有关。含有乙醛酸循环酶系,在乙醛酸循环中产生的琥珀酸参加线粒体中的三羧酸循环。

Golgi apparatus　高尔基体

由成摞的扁囊和小泡组成细胞器,每摞构成一个高尔基网体,一个细胞中可有多个高尔基网体。其功能是加工和包装分泌蛋白、溶酶体蛋白和质膜蛋白等。

Golgi body　高尔基体

Golgi apparatus 的同义词。

granum (pl. grana)　基粒

叶绿体中由成摞的盘状扁膜囊组成的粒状光合膜集合体,膜中含有叶绿素。

gyrase　促旋酶

大肠杆菌中与 DNA 复制有关的一种酶,又称形态异构酶Ⅱ,有使解超螺旋的环状 DNA 分子通过切口连接重新形成负超螺旋的性能。

haploid　单倍体

具有配子染色体数的细胞或个体。

HAT medium HAT 培养液

用于选择杂交瘤细胞的培养液，内含有次黄嘌呤核苷(hypoxanthine)、氨基喋呤(aminopterin)和胸腺嘧啶核苷(thymidine)。在此培养液中，次黄嘌呤核苷－鸟嘌呤核苷磷酸核糖基转移酶(HGPRT)缺陷型瘤细胞不能生长，只有同正常细胞发生融合的杂交瘤细胞才能生长。

heat shock protein 热激蛋白

生物体因生长温度升高而发生热休克时合成的蛋白质，包括在低温时完全不合成的蛋白质和在高温下合成速率提高的蛋白质，如分子伴侣蛋白即为热激蛋白。

helicase 解旋酶

DNA 复制时，结合在复制叉前方使 DNA 双螺旋解旋的酶。

heterochromatin 异染色质

间期核内凝缩并染色深的染色质。分兼性和恒定型两类。

histone 组蛋白

含碱性氨基酸(如赖氨酸、精氨酸)较高的一类蛋白质，是染色体的主要蛋白质成分，现已发现的染色体组蛋白共有六种，其等电点 pH＞10。一般常见的为 H_1、H_2A、H_2B、H_3 和 H_4 五种。

holoenzyme 全酶

由核心酶蛋白和辅酶(基)组成的具有功能的复合酶。

homeobox 同源异形框

同源异形基因含有的共有序列，含由此序列的基因所编码的蛋白质具有 DNA 结合能力，调节基因的表达。

homeosis 同源异形转化

一种附肢或器官生长在应长其他附肢或器官的部位，例如果蝇在长触角的部位长成了腿。

homologous chromosome 同源染色体

减数分裂时配对的染色体，每对同源染色体含有相同的基因序列。

house-keeping gene 管家基因

为维持细胞存活和生长所必需的蛋白质编码的基因，在各类细胞中都表达，例如为糖酵解和柠檬酸循环所需酶编码的基因。

hybridization technique 杂交技术

用来检验核酸单链间互补碱基顺序的方法。互补的单链碱基顺序通过建立氢键形成双链结构，如 DNA-DNA；DNA-RNA；RNA-RNA。

hybridoma 杂交瘤

为了制造单克隆抗体，将分泌抗体的淋巴细胞和瘤细胞融合所形成的杂交细胞。

hydrogen bond 氢键

同 O 或 N 原子共价结合的 H 原子与带有非共用电子对的原子之间的弱静电引力。

hydrophilic 亲水性的

分子或分子一部分可和水形成稳定结合的性质，通常含有在水中形成氢键的极性基。

hydrophobic 疏水性的

分子或分子一部分不能同水形成稳定结合，通常是非极性的，不溶于水或微溶于水。

hypochromic shift　增色转变

DNA 分子的氢键打开，形成单链结构时，其在 260nm 波长紫外线吸收值增加，表示 DNA 双螺旋熔解，亦称增色效应。

hypotonic solution　低渗液

溶质浓度低于细胞内同种溶质浓度的溶液。

idiogram　染色体组型模式图

一细胞或个体的中期染色体组绘制后排列成的标准顺序。

imaginal disc　成虫盘

昆虫的成虫器官在幼虫阶段的原基，由未分化的单细胞层所组成。

inducer　诱导物

能诱导同其代谢有关的酶类大量合成的小有机分子，是效应物中的一类。

indusible enzyme　可诱导酶

只在底物（诱导性的）存在时，才进行合成的酶类，如 β－半乳糖苷酶。

informosome　信息体

在某些种类动物的卵细胞质中存在的一种核糖核蛋白颗粒，由 mRNA 结合蛋白质构成，其中的 mRNA 在早期胚胎较晚的时候翻译，影响胚胎发育和细胞分化。

Initiation factor (IF)　起始因子

蛋白质合成起始所需要的蛋白质，如 IF1、IF2、IF3 蛋白质。30S 核糖体亚单位结合到 mRNA 上，需要有 IF2 蛋白，f-met-tRNA 需和 IF2 蛋白结合，才能结合到 30S 核糖体亚单位和 mRNA 上，形成起始复合物。

inner membrane subunit (IMS)　内膜亚单位

线粒体内膜内表面上附着的颗粒成分。由头段和柄两部分构成（参看偶联因子—coupling factor）。

integral protein　（膜）整合蛋白

嵌插在脂双层中的膜蛋白。

intein　内含肽

翻译后的肽链经剪接形成成熟蛋白时被剪除的肽链部分。

intermediate filament　中间丝

细胞内粗细介于微丝与微管之间的纤维结构，直径约 10nm，故又称 10nm 丝。中间丝因组成的蛋白质性质不同而分为几种，如角蛋白丝、结蛋白丝、波形蛋白丝等。

intephase　间期

真核细胞细胞周期中从一次有丝分裂结束到下次有丝分裂开始之间的时期，包括 G_1、S、G_2 三个时期。

in vitro　体外活体（实验）

细胞、组织或器官在有机体外或离体培养；设计在体外进行的生物过程实验。

in vivo　体内

在有机体内活体条件下进行实验。

ion pump　离子泵

存在于膜上协助离子进行跨膜主动运输的整合蛋白。

isotope　同位素

原子序数相同，而原子量不同的原子，互为同位素。能发出电磁辐射或电离粒子的同位素，称为放射性同位素。在生物实验中，常用同位素的化合物作为示踪手段。

isochromosome 等臂染色体

着丝粒在染色体中央，两臂等长的染色体。

isozyme 同工酶

能催化同一种反应的一种酶的多种形式。但各种同工酶的最适 pH 和最适底物浓度是不同的。

junction 连接

相邻动物细胞质膜上分化出的连接结构，如紧密连接、缝隙连接、桥粒等。

karyokinesis 核分裂

细胞核分裂。

karyoplasm 核质

核物质的可溶相，不包括染色质和核仁。亦称为 nucleoplasm。

karyoplast 核体

细胞经细胞松弛素处理后，排出的细胞核带有少量细胞质，并包有一层细胞膜，这种细胞核称为核体，亦称小细胞(mini cell)。

karyotype 核型

将细胞的染色体照片按染色体大小成对排列起来的图相，即染色体组型。

keratin 角蛋白

含硫的纤维蛋白，是构成毛发、角、指甲、表皮的重要组成成分，亦是组成中间丝中的角蛋白丝的主要成分。

kinesin 驱动蛋白

摩托蛋白的一种，摩托蛋白包括肌球蛋白、动力蛋白和驱动蛋白。驱动蛋白具有 ATP 酶活性，可利用水解 ATP 提供的能量沿微管向微管的负端移动。

kinetochore 动粒

染色体着丝粒处与纺锤丝相连的盘状蛋白质性结构。

kinetosome 动体

鞭毛和纤毛的基体。

kinoplasm 动质

细胞质中带有核糖体的成分，表现为细胞质中的嗜碱性区。电镜观察表明动质是聚积在内质网上和细胞质基质中的核糖体，因含 RNA 故呈嗜碱性。

Krebs cycle Krebs 循环

即三羧酸循环，是丙酮酸最通常的氧化代谢途径。

lampbrush chromosome 灯刷染色体

染色质丝上带有很多环突出区的巨大双价染色体。在两栖类卵母细胞核减数分裂前期 I 的双线期中，这种染色体特别明显。

LD_{50} 半致死剂量

在一定时间内，使生物群中一半致死的药物或辐射剂量。

lagging strand 后随链

DNA 复制时，在复制叉处不连续合成的一股新链，合成的片段随后才共价连接。合成的片段称为 Okazaki 片段。

leading strand 前导链

DNA 复制时，在复制叉处以 5′→3′的方向连续合成的一股新链。

leptotene 细线期

减数分裂前期 I 的第一阶段，此时染色体呈单一细线形，线上有清晰可见的染色粒。

ligase　连接酶

能催化 DNA 单链片段的 5′末端和另一片段 3′末端相连接的酶，即多核苷酸连接酶(polynucleotide ligase)。

light reaction　光反应

光合作用中的需光反应阶段，在此过程中合成了 ATP 和辅酶 II(NADPH)。

locus　基因座

基因在染色体上所占的部位。

lymphacyte　淋巴细胞

受外源分子(抗原)的刺激产生免疫反应的一类无颗粒白血细胞，分 B 淋巴细胞和 T 淋巴细胞两类。

lysosome　溶酶体

真核细胞细胞质中由膜包围成的泡状细胞器，含有可消化生物体内各种有机物的多种酸性水解酶。

lysozyme　溶菌酶

消化粘多糖的一种酶。

M phase　M(有丝分裂)期

真核生物细胞周期中的一个时期，在此期中发生核和细胞质分裂。

M-phase-promoting factor(MPF)　M 期促进因子

由周期蛋白和蛋白质激酶组成的复合物，启动细胞进入 M 期。

macromolecule　大分子

由单体缩合而成，相对分子质量大于数千道尔顿以上的分子。

macrophage　巨噬细胞

专门吞噬颗粒物质的白血细胞。

major histocompatability complex(MHC)　主要组织相容性复合物

脊椎动物中为一个细胞表面蛋白质大家族编码的基因复合物，此类蛋白质可同外源蛋白质的肽片段结合，并将其呈递给 T 淋巴细胞，诱发免疫反应。

MAP kinase(mitogen-associated protein kinase) MAP 激酶(促分裂原结合蛋白质激酶)

在把信号由质膜传递给核的途径中起关键作用的一种蛋白质激酶，开启多种增殖和分化诱导信号。

maternal factor　母体因子

在卵子发生过程中，母体在卵中沉积的蛋白质和 RNA。

matrix　基质

细胞内和细胞器内的无结构物质。由水、介质中悬浮的分子和颗粒组成。

maturation division (meiosis)　成熟分裂(减数分裂)

性细胞的染色体组经两次核分裂，由二倍数减为单倍数的分裂过程。

meiocyte　性母细胞

能进行减数分裂的细胞，如卵母细胞、精母细胞、孢原细胞。

meiosis　减数分裂

见 maturation division。

melanosome　黑色素小体

黑色细胞(melanophore)中含有酪氨酸酶的细胞器。

melting 熔解

升温后，由于打开了氢键，DNA 双螺旋的两股链分离成单链的变化。

membrane 膜

由双层脂类分子结合蛋白质构成的片状结构，是质膜和膜围细胞器主要组成部分。

membrane channel 膜通道

允许无机离子和小分子穿膜被动扩散的穿膜蛋白复合物。

membrane transport 膜运输

在膜运输蛋白介导下分子的穿膜运动。

meristem 分生组织

有花植物中的有组织结构的细胞群，可衍生出组织和器官，如根和苗顶端分生组织。

meromyosin 酶解肌球蛋白

肌球蛋白经蛋白水解酶消化后所产生的成分。分为两种，一为重酶解肌球蛋白(H-mero-myosin)，一为轻酶解肌球蛋白(L-meromyosin)，后者为肌球蛋白分子尾部的主要成分。重酶解肌球蛋白带有肌球蛋白分子头部，有同 Ca^{2+} 相结合的部位，具有 ATP 酶活性。

mesenchyme 间充质

动物结缔组织的不成熟未特化形式，由稀薄的细胞外基质埋藏着细胞所组成。

mesoderm 中胚层

介于内外胚层之间的一个胚层，由此胚层分化出骨骼肌肉系统、结缔组织、血和肾、心脏等内部器官。

mesosome 间体

原核生物的质膜向内褶叠形成的结构，上面附着 DNA，其功能同呼吸和细胞分裂有密切的关系。

messenger RNA (mRNA) 信使核糖核酸

确定一种蛋白质氨基酸序列的 RNA 分子，由与 DNA 作用互补合成的 RNA 转录本剪接而成，传递 DNA 为蛋白质合成编码的信息。

metacentric 中间着丝粒的

指着丝粒位于染色体正中的。

metaphase 中期

有丝分裂和减数分裂中，染色体沿纺锤体赤道面排列的阶段。

methionine tRNA ($tRNA^{met}$) 甲硫氨酸转移 RNA

能接受甲硫氨酸的 tRNA，在酶的作用下，可形成甲硫氨酰 tRNA(met-tRNA)。

microbody 微体

真核细胞中由膜包围的细胞器，含有不同的酶，功能亦不同，多含有过氧化氢酶，也有的含用于乙醛酸循环的酶。细胞中主要的微体有乙醛酸循环体(glyoxysome)、氢化酶体(hydrogenosome)和过氧化物酶体(peroxisome)。

microfilament 微丝

主要由肌动蛋白组成的细丝状细胞骨架成分，亦称肌动蛋白丝(actin filament)，直径约 60nm。与原生质流动、保持细胞外形、细胞分裂、质膜皱褶、神经分枝，形态发生运动等变化有关。

micropinocytosis 微胞饮

质膜内陷形成直径约 65nm 的胞饮小泡的内吞作用称为微胞饮。

microsome　微粒体

在超离心时,分离出的小泡状成分,系由内质网等膜的碎片形成,小泡的外表面常附有核糖体。是研究糙面内质网功能活动的良好材料。

microtrabecular lattice 微梁网架

R. Porter 在高压电镜下看到的细胞质中的网状纤丝结构,除线粒体外,它和各种细胞器相连。亦称微梁系统。现被认为系人为赝像。

microtubule　微管

由微管蛋白(tubulin)原丝组成的不分枝的中空管状结构,直径约 25nm。是细胞骨架成分,与细胞运动现象有关。纺锤体、纤毛、中心粒等均系微管组成的细胞器。

microtubule-associated proteins(MAP)　微管相关蛋白

与微管结合,增强微管稳定性大的相对分子质量蛋白质(200～300kDa)。

microtubule-organizing center(MTOC)　微管组织中心(MTOC)

细胞中微管生长的发源区,如动物细胞的中心体。

microvillus(pl. ,microvilli)　微绒毛

动物细胞质膜向外伸出的指状突起,存在于细胞的游离面。有的游离细胞整个表面均存在有微绒毛。

midbody　中间体

动物细胞在细胞质分裂晚期,在赤道面部位纺锤丝周围浓集着一些浓密物质和小泡所构成的结构。

millipore filter　微孔滤膜

一种盘形合成滤器,滤膜上具有许多一定孔径的微孔(孔径 0.005～8μm),一些经不住高压消毒的营养液,可用微孔滤膜滤除微生物。

mitochondrion　线粒体

真核细胞中由双层膜围成的制造 ATP 的细胞器,内膜内褶形成嵴。线粒体是进行有氧呼吸代谢的场所。经氧化磷酸化作用后,糖被完全氧化成 CO_2 和 H_2O,释放出的能量贮存到 ATP 中。

mitogen　促(细胞)分裂原

刺激细胞进行有丝分裂的化合物。

mitosis　有丝分裂

核分裂的一种方式,经过分裂产生了两个染色体数和遗传性相同的子细胞。在此过程中,染色质在形态上凝缩为丝状染色体,故名。

mitotic apparatus　有丝分裂器

有丝分裂过程中,暂时出现的由三种成分组成的结构,三种成分是:①中心粒周围形成的星体;②纺锤体和③基质。

mitotic center　有丝分裂中心

有丝分裂过程中确定染色体移向两极的结构。大多数动物细胞,中心粒周围物质起着有丝分裂中心的作用,植物细胞有丝分裂中心的性质还不清楚。

mitotic index　有丝分裂指数

在一定组织标本中,进行有丝分裂的细胞在细胞总数中所占的百分数。即处于有丝分裂期细胞数同处于间期细胞数之比。

mole　摩尔

物质的量,其基本单元的数目与 0.012kg ^{12}C 的原子数相等。1 摩尔的物质的重量是以克为单位,其数量等于相对分子质量。

molecular biology 分子生物学

在分子水平上用物理化学和生物化学等方法研究生物现象的科学。

molecular chaperone 分子伴侣

"见 chaperone"条。

monera 原生物界

分类学上的原核生物界,包括细菌和蓝细菌(蓝藻)。

monoclonal antibody 单克隆抗体

由克隆化的杂交瘤细胞分泌的纯一抗体。

monomer 单体

一种大分子或细胞结构的基本单位,通过反复的单一反应形成聚合物的简单化合物。

monoploid 一倍体

具有一组基本数的染色体(即多倍体的基本染色体数)的细胞或个体。

morphogen 形态发生素

以浓度梯度差诱发对一定浓度阈值发生反应的细胞或组织向特定方向分化和发育的物质(因子)。

morphogenesis 形态发生

胚胎发育过程中胚胎整体和局部形状发生变化的过程。

morula 桑椹胚

哺乳动物胚胎很早期发育阶段,合子经卵裂形成一实心细胞团。

motif 结构域

蛋白质的多肽链中可被识别出的结构成分, 独立折叠成球形结构区域, 与蛋白质执行功能有关。

motor protein 摩托蛋白

利用水解 ATP 提供的能量可沿微管或多聚分子移动的蛋白质,如肌球蛋白、动力蛋白和驱动蛋白。

mycoplasma 枝原体

最小的一类原核生物,无细胞壁

myofibril 肌原纤维

横纹肌肌纤维细胞质中的肌微丝束。

myofilament 肌(微)丝

组成肌原纤维的细丝,分粗细两种,粗肌丝由肌球蛋白构成,细肌丝由肌动蛋白构成。

myosin 肌球蛋白

为由 6 条肽链组成的纤维蛋白。在横纹肌中是构成粗肌丝的主要成分。头部具有 ATP 酶活性。

Na^+-K^+ ATPase(Na^+-K^+ pump;Na^+ pump) Na^+-K^+ATP 酶

大多数动物细胞中质膜上的跨膜载体蛋白,它可将 Na^+排出细胞外,而利用水解 ATP 的能量将 K^+运进细胞。

negative control 负调控

一种转录调节机制,通过阻遏物同操纵基因相结合而关闭结构基因的转录。

negative staining　负染色

用于电镜观察的一种染色技术，方法是将标本用密电子物质（如磷钨酸）染色后，使被观察的对象为亮的，背景为暗的。

neuron　神经元

即神经细胞。

nicotinamide adenine dinucleotide(NAD)　烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（辅酶 I）

电子载体分子，在能量传递反应中作为全酶的辅酶起作用。其还原形式为 NADH。

nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP)　烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（辅酶 II）

在生物合成的氧化还原反应中与 NAD^+起同样作用，其还原形式为 NADPH。

non-histone　非组蛋白

构成染色体的酸性或中性蛋白质（系与组蛋白相对而言），等电点 pH4 ~ 9，对基因表达有调节作用。

nuclear envelope　核被膜

真核细胞中围核的双层膜，膜上有核孔穿通。外膜的外表面上结合有核糖体，内外双层膜间的空隙称为核围池。

nuclear lamina　核纤层

核被膜内层内表面上由 A 、B、C 三种核纤层蛋白构成的网络结构，网络结构的外表面与内核膜结合，内表面和染色质相连。核纤层蛋白通过磷酸化和去磷酸化使核纤层解体和重装配，从而对细胞分裂过程中核膜的破裂和重建起调控作用。

nuclear export signal(NES)　核输出信号

核中某些蛋白质（如 mRNP）和 RNP 复合物蛋白质，其肽链中指导由核输出到细胞质的氨基酸序列。

nuclear localization signal(NLS)　核定位信号

亲核蛋白中指导蛋白质由细胞质入核的氨基酸序列。

nuclear matrix　核基质

核液中由非组蛋白构成的网架结构，与染色质的定位、复制和转录活动有关。

nuclear pore complex　核孔复合体

核被膜上沟通核质和细胞质的复杂隧道结构，隧道的内、外口和中央有由核糖核蛋白组成的颗粒。核孔对进出核的物质有控制作用。

nuclear skeleton　核骨架

亦称为核基质，现作为核纤层和核基质的统称。

nucleic acid　核酸

核苷酸的聚合物，为不分枝的分子链。分为核糖核酸和脱氧核糖核酸两类。

nucleoid　类核

原核细胞中的 DNA 所在的区域，此区与细胞质间无核膜隔开。

nucleolar-organizing chromosome　组织核仁染色体

含有核糖体 RNA 基因的染色体，能在 rRNA 基因部位组织成核仁。

nucleolar-organizing region　核仁组织区

染色体中核糖体 RNA 基因（rDNA）所在的部位，在此处可形成核仁。

nucleolus　核仁

核内转录核糖体 RNA 和装配核糖体的结构，无膜包围，在电镜下可区分成颗粒区

和原纤维区两个区域。

nucleoplasm 核质

充满核中的无结构基质,染色体和核仁悬浮其中。

nucleoplasmic index 核质指数

核与细胞质的体积比值,公式为:

$$NP=\frac{Vn}{Vc-Vn}$$

式中 NP 为核质指数, Vn 和 Vc 分别代表细胞核和细胞质的体积。

nucleoplasmin 核质蛋白

由真核生物细胞核中分离出的一种酸性蛋白,可同组蛋白 H_2A 和 H_2B 结合,协助核小体的装配。

nucleoporin 核孔蛋白

位于核孔两端可协助其他蛋白质进出核的蛋白质,分别为 NES 与 NLS 的受体。

nucleoside 核苷

由嘌呤或嘧啶碱基和戊糖(核糖或脱氧核糖)组成的化合物。核糖核苷为组成 RNA 的成分,脱氧核糖核苷为组成 DNA 的成分。

nucleosome 核小体

染色体的单位结构,由组蛋白和 200 个碱基对的 DNA 双螺旋组成的球形小体。小体的核心由四种组蛋白的 8 个分子组成八聚体即 H_2A、H_2B、H_3、H_4 四种组蛋白,每种各两个分子。组蛋白核心的外面缠绕了 1.8 圈的 DNA 双螺旋,约 165 个碱基对,其进出头处结合有 H_1 组蛋白分子。小体的直径约 10nm。

nucleotide 核苷酸

核苷的磷酸化合物,是构成 DNA 或 RNA 的单体。

nucleus 核

真核细胞由双层膜围成的含有染色体和核仁的区域。

Okazaki fragment 冈崎片段

DNA 复制时,后随链在复制叉处以 5′→3′的方向合成的片段,后经连接酶催化共价连接成连续链。

oligomycin-sensitive conferring protein(OSCP) 寡霉素敏感性转授蛋白

构成 F_1-F_0 偶联因子柄部的蛋白质,具有把寡霉素敏感性传递给 F_1 因子的性能。

oligosaccharide 寡糖

由 2～10 个单糖单元通过糖苷键连接起来的线性或分枝的糖类。

oncogene 癌基因

可引起细胞癌变的基因。调控细胞增生和分裂的正常基因(原癌基因)的突变形式。

oocyte 卵母细胞

经过减数分裂能形成卵的细胞。

operator 操纵基因

操纵子中可和阻遏物结合的一段特定核苷酸顺序,对相邻的结构基因的转录活动有控制作用。

operon 操纵子

操纵子学说提出的基本概念,用以说明结构基因的转录活动受相邻的操纵基因的调节。操纵子是由启动基因、操纵基因和结构基因几部分组成。调节基因的表达

产物——阻遏物蛋白有抑制操纵基因活动的作用,从而关闭操纵子，结构基因停止转录,而诱导物可与阻遏蛋白结合,使其失去活性。

organelle　细胞器

真核细胞中,具有一定结构形态和执行特定功能的结构,如线粒体、高尔基体等。

ovum　卵

未受精的雌配子。

oxidative phosphorylation　氧化磷酸化

有氧呼吸中同电子传递(由营养分子传递到分子氧)相偶联的 ATP 合成。反应中呼吸能转化为磷酸键能,使 ADP 磷酸化为 ATP。

pachytene　粗线期

减数分裂前期 I 的一个阶段,此时同源染色体间发生交换。

parthenogenesis　孤雌生殖

由未受精的卵发育成个体的现象。

passive transport　被动运输

离子或小分子在浓度差或电位差的驱动下的穿膜运动。

patch-clamp recording　膜片钳记录技术

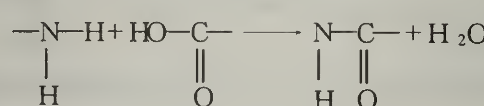
用一小片细胞膜封住玻璃电极的顶端小口,以记录电流通过膜片中单个离子通道流动的技术。

pattern formation　模式形成

胚胎发育中细胞获得个性的过程,在此过程中细胞可按一定的空间模式有秩序地进行活动。

peptide bond　肽键

多肽链中氨基酸间的连接键。是由一个氨基酸的氨基和相邻氨基酸的羧基脱水缩合成的共价键。



(肽键)

perinuclear cisterna　核围池

核膜内外两层间的空隙,充有液体。

peripheral　周边的

近表面的部分。

peripheral protein　周边蛋白

存在于脂双层表面的膜蛋白。

permease　透性酶

膜内的一类载体蛋白,每一种与特定的底物分子穿膜运输有关。

peroxisome　过氧化物酶体

细胞质中由膜围成的小体，是微体的一种，内含有过氧化氢酶和多种氧化酶等共约 26 种酶、其功能与糖原异生、分解代谢、H_2O_2 的分解等有关。

phage 噬菌体

见 bacteriophage。

phagocytosis 吞噬

细胞吞入颗粒物质的过程。

phagosome 吞噬体

原指细胞质中由质膜内陷包围了细胞外物质形成的小颗粒。

phosphorylation 磷酸化

化合物结合磷酸的作用。

photophosphorylation 光合磷酸化

光合作用中利用光能使 AMP、ADP 加上磷酸的作用。

photorespiration 光呼吸

光合作用细胞在有光条件下吸收 O_2 放出 CO_2 的过程。

photosynthesis 光合作用

真核细胞叶绿体中和原核细胞光合膜中的叶绿素吸收光能使 CO_2 和 H_2O 合成糖的过程。

photosystem I (PS I) 光系统 I

光合作用的一种光化学反应系统,产生 NADPH,但不产生氧。

photosystem II (PS II) 光系统 II

光合作用中一种光化学反应系统,将 H_2O 分解成 O_2 和一弱的还原剂,与 PSI 相偶联。

phragmoplast 成膜体

植物细胞分裂时,在晚后期和早末期,两组染色体之间形成的结构,成膜体由许多微管和膜泡组成,小泡内的物质用于合成细胞板。细胞板一旦形成,即把成膜体分成两部分,细胞分裂成了两个子细胞。

phycobilin 藻胆色素

红藻和蓝藻中的附属光合作用色素。

pinocytosis 胞饮作用

细胞内吞液体物质的作用。

plasma lemma (plasma membrane) 质膜

包围在原生质体外面的一层单位膜,过去称为细胞膜。

plasmodesmata 胞间连丝

相邻植物细胞间的相通的细胞质丝连接结构。

plasmid 质粒

染色体外的遗传物质,可影响细胞的表型,能游离存在和独立复制,也可整合到染色体中和染色体同步复制,如附加体(episome)。常作为 DNA 片段克隆载体。

plastid 质体

植物细胞中由双层单位膜围成能进行半自主复制的一类细胞器。如叶绿体、有色体(chromoplast)、造油体(oleioplast)、白色体(leukoplast)。

polymer 聚合物

由单体聚合成的大分子。

polymerase 聚合酶

催化核苷三磷酸合成 DNA 或 RNA 的酶。

polymerase chain reaction(PCR) 多聚酶链反应

通过 DNA 互补双链解链和退火聚合多次循环,扩增 DNA 特定区段的技术。

polynucleotide 多核苷酸

一段连接的核苷酸顺序。

polypeptide　多肽
由氨基酸通过肽键相连成的聚合物。为不分枝的线性链。

polyploid　多倍体
染色体数比通常的两套染色体多一套或几套的细胞或个体。

polyribosome (polysome)　多核糖体
在蛋白质合成时，由 mRNA 链串连起来的多个核糖体。

polytene chromosome　多线染色体
内部复制多条 DNA 链而不分离的大染色体。

position effect　位置效应
基因按照其在基因组中所处的位置进行表达的差异。

positional information　位置信息
多细胞生物中细胞根据其所处的位置所获得的位置标志信息。

positional value　位置值
细胞内部对位置信息的纪录。

positive control　正调控
一种转录调节机制，当特定分子结合到启动区调节部位上时，相邻的结构基因即开启转录。

Pribnow box　Pribnow 框
即 TATA 框，是启动子中的一小段核苷酸序列，RNA 聚合酶与之结合后起始转录。

primary constriction　初级缢痕
中期染色体上着丝粒区所处的狭细部位。

primary structure　一级结构
基本组分间以共价键结合的大分子排列顺序。蛋白质的一级结构是指其氨基酸组成的线性顺序以及多肽链的氨基酸残基数目。多核苷酸的一级结构是指核苷酸的数目和线性顺序。

primer　引物
可与 DNA 一股链配对的一个短序列(一般为 RNA)，可为 DNA 聚合酶合成脱氧核苷酸链提供游离的 3′-OH。

primerase　引发酶
依赖 DNA 的 RNA 聚合酶，在 DNA 复制中催化合成 RNA 引物。

primosome　引发体
由 6 种蛋白质组成的复合体，在 DNA 复制时可同单链 DNA 结合，使 DNA 形成适于同引物酶结合的二级结构，以利于复制，引物体以 5′→3′ 的方向沿模板链移动。

prion　蛋白质感染子
不含核酸只由蛋白质组成的具有感染性的病原体。有的学者译为蛋白质(朊)病毒。

procentriole　前中心粒
新装配尚未成熟的中心粒。

programmed cell death　程序性细胞死亡
细胞正常的温和自杀过程，即细胞凋亡。

prokaryote　原核生物
细胞中没有由膜包围的真正的核的一类生物，如细菌、蓝细菌。

prolamellar body 前片层小体

在无光的条件下，前质体和白色体中由小管组成的晶格状结构，受光照后可发育成类囊体。

prometaphase 前中期

核分裂时，染色体向赤道面移动的阶段。

promotor 启动子

操纵子中可同 RNA 聚合酶结合的一段特定核苷酸顺序，是操纵子的调节成分。

pronucleus 原核

受精卵中发生融合前的卵核和精核。

prophase 前期

有丝分裂(或减数分裂)的第一阶段，是 DNA 复制后开始出现染色体细线的时期。在此期末，核膜破裂，每条染色体纵分为二(只在着丝粒处相连)。

proplastid 前质体

尚未发育成熟的质体，为由双层膜围成的小泡。

proteasome 蛋白酶体

细胞质溶质中大的蛋白质复合物，降解带有销毁标志的细胞质溶质中的蛋白质。

protein kinase 蛋白质激酶

可将 ATP 的磷酸基转移到靶蛋白的专一氨基酸上的酶，不同的蛋白质激酶可使不同的靶蛋白磷酸化。

protein phosphatase 蛋白质磷酸酶

通过水解将蛋白质的磷酸基除掉的酶，具有高度专一性。

proteoglycan 蛋白聚糖

由一条蛋白质芯结合一条或多条葡糖胺聚糖链组成的分子，是细胞外基质的主要组成成分。

prothetic group 辅基

可与酶分子活性部位牢固结合的小分子，是酶具有活性和同底物相互作用所需要的成分。(见辅酶，coenzyme)。

protist 原生生物

单细胞真核生物，如鞭毛虫、原生动物等。

proto-oncogene (cellular oncogene, c-*onc*) 原癌基因

正常细胞中与致癌病毒中癌基因同源的 DNA 序列，即对细胞生长和分裂有调控作用的正常基因。原癌基因的激活可导致细胞癌变。

protoplasm 原生质

具有生命现象的细胞活物质；构成活细胞的物质的总称。

protoplast 原生质体

由脂双层膜包围着原生质的活细胞；脱壁的植物细胞。

puff 蓬突

染色体松展进行转录的区域，通常在多线染色体中见到。

pump 泵

驱动离子和小分子穿膜主动运输的跨膜蛋白。

purine 嘌呤

核酸中的一类含氮碱基，如腺嘌呤、鸟嘌呤。

pyrimidine　嘧啶

核酸中的一类含氮碱基,如胞嘧啶、胸腺嘧啶、尿嘧啶。

Q-banding　Q－分带

染色体的一种分带方法,用荧光染料染色,染色体上显出着色的带状区,可与不着色区分开。

quantum　量子

辐射能的单位,亦称光子,所含能量与光波的波长成反比。

quatermary structure　四级结构

由多条多肽链构成的蛋白质结构。

receptor-mediated endocytosis　受体介导内吞

动物细胞选择吞入的机制,大分子与质膜上的专一受体结合,形成衣被小泡进入细胞。

receptor protein　受体蛋白

可同专一信号分子结合启动细胞发生反应的蛋白质,许多受体蛋白位于质膜上,疏水性信号分子的受体则位于细胞质溶质中。

recombinant nodule　重组小结

减数分裂前期中,在联会复合体中央区中形成的颗粒状的多酶复合物,其功能和同源染色体的非姊妹染色单体产生交叉和交换活动有关。

redox couple　氧化还原偶联

化合物的氧化式和还原式参加了氧化还原反应,如 NAD^+ – NADH。

repetitive DNA　重复 DNA

DNA 中重复出现的核苷酸序列,有的可重复上百次,上千次,甚至百万次。

replication　复制

由核酸模板链复制出相同核酸链的过程。

replication fork　复制叉

DNA 双螺旋分子复制时,正在复制的互补链部位呈“Y”形,故名。

replicon　复制子

具有一定起始点的 DNA 复制单位,原核生物和病毒 DNA 只有一个起始点,故一个基因组只有一个复制子,真核生物基因组则含有多个复制子。

repressible enzyme　可阻遏酶

合成受底物调节的酶,没有底物时,酶进行合成;有底物时酶的合成受抑制。

repressor　阻遏物

操纵子中调节基因的蛋白质产物,可同操纵基因结合调节结构基因的转录活动。

respiration　呼吸

需氧细胞的主要产能反应,过程涉及到电子由有机分子至 O_2 的传递。

reverse transcriptase　反转录酶

为依赖 RNA 的 DNA 聚合酶,它以 RNA 为模板合成互补 DNA。

RGD　序列

存在于纤连蛋白和某些细胞外基质蛋白肽链中的精氨酸－甘氨酸－天冬氨酸三肽序列,可被一些整联蛋白所识别,并与之结合。

rho factor　ρ 因子

大肠杆菌的一种蛋白质因子,具有识别转录终止信号的能力,和 RNA 聚合酶全

酶结合后，能使 RNA 的转录在正确位置终止，并使转录完成的 RNA 解脱出来。

ribonucleic acid（RNA） 核糖核酸

由含核糖的核苷酸组成的多核苷酸。

ribophorin 核糖体亲和蛋白

糙面内质网中的一种整合蛋白，分 I 和 II 两种，是核糖体的受体蛋白。

ribosomal DNA(rDNA) 核糖体 DNA

DNA 分子中为核糖体 RNA 编码的转录单位(rDNA)。每一 rDNA 包括为 28S 和 18S rRNA(原核生物为 23S 和 16S rRNA)编码的核苷酸顺序。在真核细胞中，rDNA 位于核仁组织区中。

ribosomal RNA（rRNA） 核糖体 RNA

参加核糖体组成的 RNA，与核糖体的构成和蛋白质合成有关。

ribosome 核糖体

由核糖体 RNA(rRNA)和蛋白质组成的复合结构，包括大小两个亚单位，是细胞质、线粒体和叶绿体中合成蛋白质的细胞器。

ribozyme RNA 催化剂

具有催化性能的 RNA。

ribulose 1,5-biphosphate（RuBP)carboxylase 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶

存在于叶绿体基质和类囊体游离面外表面上的一种酶，在 C_3 循环中与固定 CO_2 有关。分子由 8 个大亚基和 8 个小亚基组成。大亚基由叶绿体基因组编码，在叶绿体中合成；小亚基由核基因组编码，在细胞质中合成。

RNA polymerase RNA 聚合酶

能在模板指导下，催化核苷酸三磷酸聚合成多核苷酸(RNA)的一类酶。

RNA primer RNA 引物

DNA 复制时在后随链上合成的一小段 RNA。

rolling cycle replication 滚环式复制

DNA 双螺旋的一种快速复制方式。环形 DNA 分子在滚动中合成长的 DNA 核苷酸顺序，然后被核酸内切酶分段切开，线性 DNA 分子以 5′ 黏性末端行互补碱基配对而环化。

rough endoplasmic reticulum（RER） 糙面内质网

膜的外表面结合着核糖体的内质网。

rpm（revolutions per minute） 每分钟转数

离心用的转速单位(r/min)。

S（Svedberg unit） 漂浮单位

见 sedimentation coefficient。

S period DNA 合成(S)期

细胞分裂间期中 DNA 复制阶段。

sarcolemma 肌纤维膜

肌细胞(纤维)的质膜，亦称肌膜。

sarcomere 肌节

肌原纤维中两条相邻 Z 线间的结构，是肌原纤维的基本结构单位。

sarcoplasm 肌浆

横纹肌肌原纤维间的半流体性的透明物质。

sarcoplasmic reticulum　肌质网

肌纤维中的内质网特化物。

satellite　随体

由次级缢痕与主体隔开的染色体远端一小部分。

satellite DNA　随体 DNA

用等密度氯化铯梯度离心法分离匀质 DNA 时,在主带附近出现的附带 DNA,一般含有高度 DNA 重复顺序,其功能尚不清楚。

secondary constriction　次级缢痕

染色体上除着丝粒处的初级缢痕外的缢痕。

secondary structure　二级结构

生物大分子在一级结构基础上的更复杂的折叠或卷曲结构,如蛋白质和多核苷酸分子中以氢键维系的螺旋结构。

second law of thermodynamics　热力学第二定律

热力学的一条原理,是说一切物理、化学变化均向着宇宙熵值增加到最大值的方向发展。宇宙熵值最大时,即达到平衡点,并达到最大的混乱。

second messenger　第二信使

受细胞外信号的作用,在细胞质溶质(cytosol)内形成或向细胞质溶质释放的细胞内小分子,负责将信号传到细胞内部,如 cAMP、IP_3 和 Ca^{2+}。

sedimentation coefficient (S)　沉降系数

悬浮在密度较低的溶剂中的一种溶质大分子,在每单位离心场作用下的沉降速率。大多数蛋白质的 S 值介于 1×10^{-12} 秒和 2×10^{-11} 秒之间,故取 1×10^{-13} 秒为一个漂浮单位(1S)。2×10^{-11} 秒即为 200 S。一种溶剂的温度一定时,S 值是由分子的重量、形状和水化程度决定的。公式为:

$$S=\frac{(dx/dt)}{\omega^2 x}$$

dx/dt 为沉降速度,ω 为角速度,　x 为沉降带到离心机中心的距离。

selectin　选择蛋白

某些类别的细胞表面上的糖结合蛋白,含有高度保守凝集素域,在有 Ca^{+}存在时可同其他细胞的专一寡糖相结合,形成暂时性的细胞粘合。例如白细胞可同炎症部位的血管内皮细胞暂时结合,从而移出血管,进入组织。

self-assembly　自我装配

在没有模板和亲体结构指导的条件下,形态结构的自动组建。

septate junction　隔状连接

在无脊椎动物细胞间常见的一种连接结构。相邻细胞质膜间有横着平行排列的条纹,使整个连接结构呈拉链状。

sex chromosome　性染色体

同决定性别有关的染色体,如 x 和 y 染色体即为性染色体。

sigma factor　σ 因子

大肠杆菌 RNA 聚合酶全酶的一个多肽亚基,分子本身无催化作用,其功能是识别 DNA 分子上的特定结合部位(启动区),同 RNA 聚合酶核心酶结合后,为 RNA 的转录确定正确的起点。

signal hypothesis　信号假说

解释分泌蛋白合成机制的一种假说，它主张指导分泌蛋白合成的 mRNA 在 AUG 起始密码子之后有一信号密码子顺序。这一顺序可指导合成一段疏水性氨基酸顺序，称为信号肽。信号肽有引导合成中的分泌蛋白多肽链穿过内质网膜，进入内质网腔的作用。

signal peptide 信号肽

分泌蛋白合成时在信号密码子指导下首先合成的一段氨基酸顺序，有引导多肽链穿过内质网膜的作用。

signal recognition particle 信号识别颗粒

由 RNA 和蛋白质构成的颗粒状复合物，对信号肽具有识别能力。

signaling cascade 信号传递级联

关联的蛋白质反应序列，一般包括磷酸化和去磷酸化反应，在细胞内起传递信号的作用。

signal sequence 信号序列

蛋白质肽链中指导该蛋白进入细胞的特定部位(如内质网、核或线粒体等)的氨基酸序列。

signal transduction 信号转导

细胞对细胞外信号发生反应的过程，即将细胞外信号转变为细胞内信号传递。

simple diffusion 简单扩散

即自由扩散(free diffusion)。

single strand binding (SSB) protein 单链结合蛋白(SSB 蛋白)

在 DNA 复制和重组时结合到 DNA 已解旋的单链上的非催化性蛋白质。其作用是使复制叉处的 DNA 双螺旋熔解和使打开的单链取直，便于复制时的碱基配对。

sister chromatid 姊妹染色单体

染色体经复制后存在于同一染色体中的两个相同的成分。

sliding filament mechanism 滑丝学说

用来说明肌肉收缩是由微丝间相互滑动引起的一种学说。

sliding microtubule theory 微管滑动学说

解释纤毛弯曲和在有丝分裂或减数分裂后期染色体移向两极的运动机制的学说。

smooth endoplasmic reticulum (SER) 滑面内质网

不与核糖体结合的内质网部分，主要进行脂类合成。

SNARE SNARE 蛋白

为一种膜蛋白，可使膜泡有选择性地与一定的靶膜融合。

sodium pump 钠泵

协助钠离子穿膜主动运输的结构，为一种需要 ATP 的 ATP 酶，又称为 Na^+-K^+泵或 Na^+-K^+ATP 酶。

spectrin 血影蛋白(红细胞膜内蛋白)

红细胞膜内表面上的一种边周蛋白。

spindle 纺锤体

有丝分裂过程中由微管组成的纺锤状结构，功能与染色体的排列、移动有关。

spindle fiber 纺锤丝

组成纺锤体的微管，可分为两类：一类是连接于有丝分裂(或减数分裂)细胞的两极之间或一极的(极微管)；另一类是由一极连接到染色体着丝盘上的(染色体微

管)。

spore 孢子

植物的生殖细胞；能抵抗不良环境的单细胞休眠体。

standard free-energy change 标准自由能变化(ΔG)

反应中反应物标准自由能与产物标准自由能之差。放能反应中 ΔG 为负值,而吸能反应中 ΔG 为正值。

stroma 基质

叶绿体中大的内部空间,内浸着类囊体,基质中含有在光合作用中使 CO_2 参入糖中的酶。

structrual gene 结构基因

为多肽、rRNA 和 tRNA 编码的 DNA 序列。

submetacentric 近中间着丝粒

着丝粒靠近染色体中央,使染色体两臂长度略有差别。

survival factor 存活因子

细胞存活所必需的细胞外信号分子,可避免细胞发生程序性死亡。

Svedberg unit 斯维德伯格单位

即沉降系数单位,用符号"S"表示,1S 等于 10^{-13} 秒。见 sedimentation coefficient 条。

symbiotic hypothesis (endosymbiotic hypothesis) 共生假说(内共生假说)

关于真核细胞起源的一种学说。这一学说主张真核细胞是由原始原核生物在一偶然机会中建立了特定共生关系产生的。线粒体是一种较大的异养原核生物吞入的游离生活的好气细菌变来的;叶绿体是吞入的一种蓝细菌进化来的。

symport 同向运输

膜载体蛋白将两种溶质分子以同方向穿膜运输。

synapsis 联会

减数分裂前期 I 的偶线期中,同源染色体的专一配对联合。

synaptic vesicle 突触小泡

突触处神经末梢中含有神经递质的小膜泡,神经冲动抵达神经末梢时,小泡释放并外排所含的神经递质。

synaptonemal complex 联会复合体

减数分裂 I 的偶线期中已联合的一对同源染色体间形成的复合结构。

T lymphocyte T 淋巴细胞

可产生细胞毒(lymphokine, 淋巴细胞活素)专一杀死抗原细胞的淋巴细胞。

T system T 系统

横纹肌肌纤维质膜内陷形成的管状结构系统，亦即横小管系统(transverse tubular system),功能是在肌纤维内部传递冲动信号。

TATA box TATA 框

见 Pribnow box。

telocentric 端着丝粒

着丝粒位于染色体一端,这种染色体只有一条臂。

telomere 端粒

染色体的末端结构,含有特定的 DNA 序列,以特有的方式进行复制。

telophase 末期

有丝分裂过程最后的核重建阶段。

tertiary structure 三级结构

生物大分子的三维褶叠结构。

thermodynamics 热力学

研究物质能量交换的科学,是物理学的一个分支学科。

thylakoid 类囊体

叶绿体或原核生物细胞质中具有光合作用的光反应系统的封闭膜囊结构。

thymine 胸腺嘧啶

DNA 分子中的一种嘧啶碱基。

tight junction 紧密连接

相邻上皮细胞质膜间的一种连接结构，此处两个细胞的质膜整合蛋白彼此接合，形成密封条索,封闭细胞间隙。

tissue culture 组织培养

在体外培养组织和细胞生长的技术。

tonoplast 液泡膜

植物细胞中围成液泡的膜。

topoisomerase 拓扑酶

与 DNA 复制有关的一类酶,通过对 DNA 双螺旋切口和封口反应催化 DNA 发生超螺旋构象转变。拓扑酶 I 催化 DNA 双螺旋解负超螺旋;拓扑酶 Ⅱ(促超螺旋酶)作用相反,催化松展开的 DNA 形成负超螺旋,能量由 ATP 水解提供。

***trans* Golgi network(TGN)** 反面高尔基网

高尔基体中离内质网最远的部分，所产生的蛋白质和脂类将抵达溶酶体、分泌泡或细胞表面。

transcriptase 转录酶

以 DNA 为模板的 RNA 聚合酶

transcription 转录

以 DNA 的碱基顺序为模板录制成单链 RNA 互补分子的过程。

transfer RNA(tRNA) 转移 RNA

在核糖体上合成蛋白质的过程中,可携带一种氨基酸运转到生长着的多肽链上的 RNA。每一种 tRNA 具有特定的反密码子,可识别 mRNA 上的特定密码子。

translation 翻译

在核糖体上按照 mRNA 的密码子顺序合成具有一定氨基酸顺序的多肽链的过程。

tritium (^3H) 氚

氢的一种放射性核素,核中含有两个中子。

tropomyosin 原肌球蛋白

横纹肌细肌丝的一种蛋白质成分,通过同肌钙蛋白相互作用调节横纹肌收缩。

troponin 肌钙蛋白

结合在横纹肌细肌丝上的一种调节蛋白,可被一定浓度的 Ca^{2+} 激活,在横纹肌收缩中起着开关的作用。

tubulin 微管蛋白

组成微管的主要蛋白质成分,有 α-、β- 和 γ- 微管蛋白。

tumor-suppressor gene 肿瘤抑制基因(抑癌基因)

在正常细胞中限制细胞增殖和浸润行为的基因，二倍体细胞中基因的双副本均丢失或失活时，细胞便失去控制，变成了癌细胞。

ultrastructure　超微结构

在电子显微镜下所显示出的细胞结构，亦称亚微结构(submicroscopic structure)。

unit membrane　单位膜

在电镜下看到的暗－明－暗三层式膜。Robertson 提出的膜结构模型，主张膜是由一磷脂双层和内外表面各附有一层展开的 β－构型蛋白所组成。现只取其电镜下的形态涵义。

unwinding protein　解链蛋白

与 DNA 复制有关的一种非催化性蛋白质，现称单链结合蛋白。见“single strand binding (SSB) protein”条。

uracil　尿嘧啶

RNA 分子中的一种嘧啶碱基。

vacuole　液泡

由膜围成的小泡，内充有含分子和颗粒的液体，呈球形，多存在于植物细胞中。

vesicle　小泡

由膜围成的球形小泡，内含有含蛋白质的水状液体。

virus　病毒

由核酸包以蛋白质外壳构成的感染性粒子，在感染的宿主细胞中利用宿主细胞的繁殖机构进行复制。

voltage-gated channel　电压门通道

有选择性地允许离子穿膜的膜蛋白，通道的开放受膜电位变化的影响，此类通道主要存在于电兴奋细胞，如神经细胞、肌细胞。

wobble hypothesis　变偶假说(摇摆假说)

由 Crick 提出的一种假说，用以解释一种 tRNA 可识别两个或三个密码子的现象。假说认为，每一反密码子的前两个碱基要求严格的专一配对，而第三个碱基可同几个碱基的任何一个配对。

zygotene　偶线期

减数分裂的前期 I 中同源染色体进行联会的阶段。随着染色体的配对，染色体间形成了联会复合体。

zymogen　酶原

无催化活性的消化酶前体，如胰蛋白酶原(trypsinogen)即是一种酶原，在一定条件下可转化成具有活性的胰蛋白酶。

附录 Ⅱ

索 引

A

α 螺旋－转角－α 螺旋结构域 460
α 螺旋－袢环－α 螺旋结构域 458,460～462
A 激酶 388
ABC 模型 638～640
ATP 合成酶 300～305,319
癌 665～674
癌基因 674～684
癌细胞 666～669
矮牵牛 717
暗反应 325～330,330～333
氨基酸 60～62
氨基酸附着部位 438
暗视野显微镜 18
氨酰基_tRNA 合成酶 439,441
奥巴林(A. E. Óпарин) 729

B

靶细胞 378～381
Bcl－2 蛋白 657～660
巴氏小体 354
白色体 316,334
白血细胞 110
半保留复制 401～402,410,497
半不连续复制 407
伴刀豆素 95～96
伴侣蛋白 476～479
半胱氨酸 61
半乳糖 447～449
半乳糖苷转乙酰酶 447～449
β 半乳糖苷酶 448～449
半自主性 308～309(线粒体);
333～334(叶绿体)
胞壁酸 176～177
胞间连丝 121～122,515
胞饮作用 127～128
胞质分裂 280～281,503,512～513
胞质环流 227～278
胞质体 704～705
孢子 523～524
孢子体 523～524
苯巴比妥 195
苯丙氨酸 61
被动运输(见物质运输) 135～137
贝时璋 734
边周蛋白 94,104
鞭杆(鞭毛本体) 257
轴丝 257～262
冰冻蚀刻技术(冰冻断裂) 23～24
病毒 49～55,671～673
病毒基因 671～673
鞭毛 127,256～261
鞭毛蛋白 262～263
细菌 262～263
真核细胞 256～261

C

cAMP 386～387
C 激酶 393
C_3 循环 330～331
C_4 循环 330～333
cdc 基因 532～533
CF_1 因子 319～320
操纵基因 448
操纵子 447～451
操纵子学说 10,448
层粘连蛋白 149,162～166
常染色质 348
超薄切片机 21
超级小鼠 714
超数排卵 706
超速离心 27～29
超微结构 21
沉降系数 28
沉默子 455
成虫盘 541,593,595,616～620
成笼蛋白 130～133
成膜体 515
成视网膜细胞瘤 685～686
成熟分裂(见减数分裂) 515～525
程序性细胞死亡 648～660
切冬酶(见切冬酶)657～659

特征　654 ~ 655
死亡信号传递　655 ~ 657
线粒体的作用　658 ~ 660
重复 DNA　370 ~ 373
重组小结　520 ~ 521
氚化(^{3}H)胸腺嘧啶核苷　26 ~ 27
穿胞运输(见膜泡运输)　128 ~ 129
穿膜运输　134 ~ 138
触角足复合物　611 ~ 612, 615
Antp　612, 614 ~ 615
Dfd　612, 614 ~ 615
Lab　612, 614 ~ 615
Pb　612, 614 ~ 615
Scr　612, 614 ~ 615
次级溶酶体　227
次级缢痕　357
次黄嘌呤　700
促成熟因子(MPF)　532
促分裂原(剂)　530
促螺旋酶　406
粗肌丝　265 ~ 267
粗线期　516, 520 ~ 521
粗线期 DNA　520 ~ 521

D

D 环式复制　418
DNA　63 ~ 65
结构　63 ~ 65
细菌　364 ~ 365
线粒体　308 ~ 309
叶绿体　333 ~ 334
真核细胞　349 ~ 355
DNA 复制　401 ~ 418
半保留复制　401 ~ 410
D 环式复制　418
端粒复制　361, 414 ~ 416
复制叉　404 ~ 406
滚环式复制　417 ~ 418
解螺旋酶　403
聚合酶　402, 408 ~ 410
DNA 结合功能域　460 ~ 463
大肠杆菌　199, 313, 408
单胺氧化酶　295
单倍体　35, 357, 516
单克隆抗体　699 ~ 702
HAT 培养液　700 ~ 701
脾细胞　700 ~ 701
制作方法　700 ~ 701
单链结合蛋白(DNA)　403 ~ 404
单体　59
单体稳定蛋白　275
单糖　66
单位膜　7, 93
单一序列 DNA　370
蛋白酶体　495 ~ 496
蛋白质
边周蛋白(外在蛋白)　95, 319, 321, 488
分裂蛋白　201 ~ 202
分子伴侣　190, 191, 310, 413, 474 ~ 479
构象变化　62
合成　437 ~ 444
核心蛋白　201 ~ 202
热激蛋白　474
修饰　444 ~ 446
定位运输　469 ~ 470, 473, 478 ~ 490
蛋白质分拣　469 ~ 474
蛋白质感染因子　55
蛋白质合成　437 ~ 446
起始　441 ~ 443
起始因子　439 ~ 440
延长　443 ~ 444
蛋白质转移器　470
蛋白质组学　84
胆固醇　98, 102
灯刷染色体　363 ~ 364
第二信使　387 ~ 393
淀粉　66, 330
电子传递链　298 ~ 299, 326 ~ 327
电子载体　302 ~ 306
载氢体　298
电子显微镜　7, 21 ~ 22
凋亡小体　655
凋亡信号　656
凋亡诱导因子(AIF)　659
顶体　231 ~ 232
低密脂蛋白(LDL)　229
动力蛋白　258, 510
动粒　358 ~ 360
动体(基体)　257
动物极　583
端粒　360, 414 ~ 416
端粒酶　361, 415 ~ 416
端池　197

端网 123
对(反)向运输 138
对控基因 603～606
多倍体 357
多核糖体 200,437
多酶体系 81～83
多肽链 441～444
多萜醇磷酸 192
多糖 66～67
多线染色体 361～363

E

EF 因子 444
鹅膏菌素(碱) 421～422,447
二倍体 357
二分裂 503
二分体 506
二价体 520
二联丝 257～260
二氯苯二甲基脲(DCMU) 328

F

F_0-F_1ATP 酶 300～301
翻译 437～444,465～468
翻转酶 194
泛醌 302
泛素 186～187,495～496
泛素结合酶 186～187,495～496
反式作用因子 459
反转录病毒 672～673
反密码子 435,438～439
反(逆)转录酶 53,415,672
放射自显影术 26～27
放射性同位素 26～27
放线菌素 D 446,527
放位(P 位) 199
纺锤体 507～511
非翻译区(UTR) 467～468
非组蛋白 356,453～454
分化 540～580
　细胞核的作用 546～549
　细胞质的作用 566～570
　细胞间的相互作用 575～578
分解物阻遏 450～451
分解物基因激活蛋白(CAP) 451
分泌蛋白 214～216,484
分泌小泡 220
分子伴侣 310,413,474～479
分子生物学 1,10
分子团聚物 729～733
分子杂交 28～30,546～547,549
福尔根反应 24～25
福克斯(S. W. Fox) 731～733
复制叉 403～406
复制体 408～410
复制子 411
辅伴侣 475
辅基 77,297
辅酶 77
辅酶 Q(CoQ) 297～298,302,313
辅受体 153
辅因子 77
辅阻遏物 448～449
副流感病毒 35

G

G 蛋白 383～387
γ 环 255
钙泵(钙激 ATP 酶) 145,271,389
钙离子 145,269～271,389
钙黏蛋白 115
钙调蛋白(素) 271～272,389～390
干细胞 541～542,554～556,648
干扰素 694
甘露糖 192
甘油三酯 69
冈琦片段 407
过氧化氢酶 236,489～490
过氧化物酶体 235～238,489～490
光合作用 316～338
　暗反应 330～333
　光反应 325～330
　光合磷酸化 327～330
　光系统 I(PS I) 323～324
　光系统 II(PS II) 323～324
高尔基体 49,209～223
高尔基复合体 5,7,47,209～221
　成熟面(trans) 210
　形成面(cis) 210
　潴泡 209～217
　小泡 214,219～221
　高尔基网 183,211
革兰氏阴性菌 176～179
共翻译转移 469
共有序列 423,427

骨髓瘤　699 ~ 702
骨髓干细胞　554 ~ 556
寡霉素　300
管家基因　540
光面内质网　182,189 ~ 195
滚环式复制(见 DNA 复制)
果蝇　585 ~ 623
　成虫盘(见成虫盘)　594,610 ~ 620
　翅盘发育　616 ~ 620
　副节　603 ~ 606
　合胞体胚　591
　卵子发生　587 ~ 590
　生活周期　591
　体节形成　607 ~ 609
　腿盘发育　618 ~ 620

H

H^+泵
　叶绿体　328 ~ 330
　线粒体　300 ~ 307
HAT 培养液　700 ~ 701
HeLa 细胞　34
HGPRT 酶　700
HOM 复合物　615 ~ 616
Hox 基因　627 ~ 634
花式形成　637 ~ 640
花束期　517
海胆　560,566
核被膜　48,182,341
　核孔　341
　核纤层　347 ~ 348,373
核篮　341
核定位信号(NLS)　480
核基质(核骨架)　244,371 ~ 372,412
核基质结合区　412
核孔复合物(体)　341 ~ 347,507,512
核被膜　48,182,341,507,512
核仁(见细胞核)　8,52,363
核仁组织区　351 ~ 358,364,428
核酸　8,66 ~ 68,366
　DNA　66 ~ 67,366
　RNA　66 ~ 67
　结构　68
核糖体(核糖核蛋白体)　9 ~ 12,47,
　　199 ~ 203,307,465
核糖体核糖核酸(rRNA)(见 rRNA)
核糖体蛋白　202
核糖体库　467
核酮糖 - 1,5 - 二磷酸羧化酶(RuBP 羧化酶)
　　318 ~ 328
核纤层(见核被膜)　345 ~ 346
核纤层蛋白　346,373
核心酶　419
核小体　347 ~ 349,411,449
核型　41 ~ 42
核移植　540,712 ~ 714
核质蛋白　345,413
核液　341,368
合子　583
合子基因　601 ~ 603
恒定(组成)型(constitutive)
　酶　79
　异染色质　354
横纹肌　196 ~ 198,264 ~ 271
　结构　196 ~ 197,264 ~ 268
　肌质网　196 ~ 197
　横小管　196 ~ 197
　收缩机制　268 ~ 272
　粗肌丝　265 ~ 267
　细肌丝　267 ~ 268
红(血)细胞　100,105 ~ 106
　分化　554 ~ 560
　血影　105 ~ 106
后随链　403,407
后期　510 ~ 511,522 ~ 523
　减数分裂　522 ~ 523
　有丝分裂　510 ~ 511
胡克(Robert Hooke)　3 ~ 4
呼吸链　298 ~ 299,326 ~ 329
　氢载体　298,300
　电子传递体　298 ~ 299,326 ~ 329
化学进化　724 ~ 734
化学偶联假说　302
化学渗透假说　302 ~ 306
滑丝(动)学说　268 ~ 271
滑动夹环机制　409 ~ 410
环孔片层　196,197
回文结构　411
活化能　75 ~ 76
蛔虫　569

I

IF(起始因子) 439～440

J

鸡
  翅发生 631～634
  体节发育 625～627
肌质网(见横纹肌) 196～198,269～271
肌醇磷脂 391～393
肌动蛋白 267～268
肌动蛋白结合蛋白(见下列各蛋白)
  凝溶蛋白(gelsolin) 274
  肌球蛋白 265～267
  促聚蛋白(profilin) 274
  原肌球蛋白 267
  肌钙蛋白 268,269
肌动球蛋白 268～269
肌节 264～265
肌膜 264
肌球蛋白 265～266,494
肌丝 264～268
肌细胞 264～271,551
  横纹肌 196～198,264～271
  平滑肌 271～272
肌纤维 264～265
肌原纤维 264
极体 586
极化区 629～633
极微管 507～511
极叶 565
极质 567～568
激活素 590
激活功能域 463
激素 463～465,532,577～578
  肽类激素(多肽激素) 463
  类固醇激素(甾类激素) 463～465
激发电子 326～327
基板 51
基粒 318～319
基膜 168
基体 257～261
基因 399～400
  定义 400
  管家基因 540
  奢侈基因 540
  调节基因 448
  操纵基因 448
基因表达 418～429
基因打靶(基因敲除) 712～713
基因工程(见遗传工程) 693～694
基因扩增 418～419
基因调节蛋白 455～463
基因组 43,358
基因组学 84
基质 243,293,319
  细胞质 183～184
  线粒体 293,487,489
  叶绿体 319,486～489
嵴 292～293
  线粒体 292～293
畸胎瘤 465,688～690
夹环 410
夹环装卸器 410
甲硫氨酸 61,441
甲酰甲硫氨酸 439～440,441～443
甲基化 429
甲烷 725
甲状腺素 577
钾离子(K^+) 139～142
假尿嘧啶 434～435
假原生质团 579～580
渐成论 582
剪接体 427～430
减数分裂 5,515～525
  分期 515～523
  联会复合体 517～521
  重组小结 520～521
  粗线期 DNA 520～521
间隔基因 601～603
间体 46,503～504
交叉(见减数分裂) 520
交换(见减数分裂) 520
角蛋白 281～282
接触抑制 532,667～668
结蛋白 281～282
紧密连接(见细胞连接) 113～115
精母细胞 586
精细胞 586
精原细胞 586
精子 585,586
经典学说 743～746
晶状体 576,641
  再生 642～647

转分化　642
聚合酶
DNA 聚合酶　402～403, 412～413
RNA 聚合酶　420～422, 448～449, 452
聚光镜(器)　16, 18～19
聚乙二醇(PEG)　35, 699
聚合酶链式反应技术　30～31
巨噬细胞　648, 655
决定子　566～570

K

抗凋亡蛋白　658
抗体　699
抗原　699
蝌蚪　231, 577
克隆　34
克隆羊　548, 718
可诱导酶　79, 448
孔蛋白　135, 176～178, 292
跨(穿)膜运输
被动运输　135～138
共运输(协同运输)　137～138
门孔运输　470
主动运输　139～145
跨膜整合蛋白　104～105

L

酪氨酸激酶　394～396
酪氨酸激酶相关受体　395～396
丽藻　256, 277
离子泵　139～145
离子通道　137～138, 380～381
连接酶　407～408
连接子　118～119
联会　517
联会复合体　517～519
亮氨酸拉链结构域　461
两栖类　623～625, 643～647
磷脂　70～71, 102～104
结构　70～71
特性　70
淋巴细胞　110
B 淋巴细胞　396, 699～702
T 淋巴细胞　396, 542
类病毒　53～54
类蛋白　727, 731
类核　45, 364～365
类胡萝卜素　320～321, 336
类囊体　318～319
类胸膜肺炎球菌(PPLO)　47
流动性　97～99
流动镶嵌模型　93～97
刘文虎克(Antonie Van Leeuwenhoek)　3～4, 11
氯化铯　401
蓝细菌(蓝藻)　47, 336, 743
磷酸二酯键　63
磷酸甘油酯(磷脂)　70
磷酸化　297, 302～306, 393～395
光合磷酸化　327～330
氧化磷酸化　297～306
磷酸化级联反应　382
磷脂酰丝氨酸　102
磷脂酰肌醇　102, 391
卵裂　565, 586～587
卵磷脂　102, 294
卵母细胞　588～589
极性　585～590
卵轴　585～590
卵子成熟　524, 585～586
卵子发生　585
物质分布　564～570, 583～584
滤泡细胞　587～589

M

M 期(见细胞分裂)　526, 533
MPF(M 期促进因子)　532
马蛔虫　544～545
酶　76～83
多酶体系　81～83
活性　78～80
恒定型酶(组成酶)　79
可诱导酶　79
可阻遏酶　79
能量代谢　76～77
特性　76～77
同工酶　80～81
酶工程　694～698
酶关联受体　393～397
酶解肌球蛋白　266
嘧啶　63～64
免疫荧光(法)技术　25
膜泡运输　127～130, 219～220, 471
膜蛋白　99～101, 225～226
膜电位　31, 141～143
动作电位　143～145

静息电位 141～143
膜分化 181～183
膜间隙 293,317
膜流 181
膜片钳位记录技术 31～32
模式形成 590
末期
减数分裂 523
有丝分裂 512
摩托蛋白 130,252,494～495
动力蛋白 130,258,494～498
驱动蛋白 130,494～498
木瓜蛋白酶 266
木质素 172
母体效应基因 595～601

N

Nieuwkoop 中心 586～587,625
NLS(见核定位信号) 480
钠钾泵(Na^+-K^+泵) 139～145
钠离子 139～145
囊胚 119～120,586～587,710
囊胚期 587
内共生学说 740～743
内含肽 445～446
内含子 400
内膜系统 181
内胚层 624
内吞体 131,229～230
内吞作用 127～133,227～230
内吞小泡 227～230
内褶 125～126
内质网 49,187～198,469,471～474
蛋白质合成 191～193
光面内质网 188,194～195
糙面内质网 188～194
脂类合成 194
糖蛋白合成 192,216～218
内质网驻留蛋白 215～216,482～484
能量代谢 72～76
能量守恒定律 5
拟核 45
拟南芥(*Arabidopsis*) 636～640
ABC 模型 639～640
花器官 638～640
同源异型基因 640
黏菌 578～580
黏着斑 280
念珠模型 350
凝胶 243～244,278
凝集素 110,668
凝溶(胶)蛋白 274

O

偶极子 58～59
偶联 302～305
偶联因子(见 F_0-F_1ATP 酶) 300～301
偶联运输 313
偶线期 517～519
联会复合体 517～519
偶线期 DNA 519～520

P

P 位(核糖体) 199～200
p21 蛋白 686,688
p21 基因 686,688
p53 蛋白 686,688
p53 基因 686,688
Pribnow 框 423
胚带 593～594
胚泡 119～120,710
胚胎发生(见发育) 591～594
胚胎培养 705～707
胚胎移植 707～708
胚胎样小体 689
胚胎诱导 624
胚胎干细胞 710～714
胚轴 595～603
配体 128,551
配子 523
配子体 523
皮层 587
葡糖胺 176～177
葡萄糖 66～67,141～142,217
蓬突 362
嘌呤酶素 446

Q

Q 循环(醌循环) 302
启动子 455～463,550～551
前导链 407
前(原)片层小体 334～335
嵌合体 710
潜能 544～546
桥粒 116～118,284
氢键 58～59,65

氢离子(H^+)　58～59,301～302
切冬酶　296,657～659
　性质　657
　作用　657
切冬酶原　657
秋水仙素　250～251,519
驱动蛋白　130,578～580
去分化　642～646
全能性　544～549
全酶　77,410

R

ρ因子　423～424
Rb蛋白　685～686
*Rb*基因　685～686
RER(见内质网)
RNA
　mRNA　199～200,422～430,441～443
　rRNA　199～202,430～433
　scRNA　346～347
　snRNA　427,436
　tRNA　433～436,438～439
RNA编辑　466～467
RNA催化剂　83～84
RNA聚合酶　420～422,448～452,453～458
染色粒　364,517
染色体
　交换　320
　姊妹　506,520～522
　分带　38～40
　结构　348～367
　同源　517～522
　消减　544～545
　形态　357,362～364
　中期　354～357,508～509,522
染色体套　358,510,570
染色体消减　544～545
染色质　48
　常染色质　353
　异染色质　353～354
染色质骨架　356,375
染色质纤维　349,355
热休克蛋白(见热激蛋白)
热激蛋白　474
　hsp60　476～478
　hsp70　475,478
　hsp90　475
溶酶体　8,47,224～234
　初级溶酶体　227
　次级溶酶体　227
　残余小体　228
　功能　230～232
　来源　233～234
　髓样小体　228
　异噬溶酶体　228
　自噬溶酶体　228
　溶酶体病　232～233
　溶酶体酶　226～227
　溶酶体膜　225～226
　溶酶体蛋白　225～226,469
蝾螈
　晶状体再生　641,645～647
　肢体再生　643～645

S

SD序列　424
σ因子　452
SNAPS　493～494
SNARE　493～494
　v-SNARE　493～494
　t-SNARE　493～494
snRNA　427,436
　U1, U2, U3, U4, U5, U6, U7　427,436
三磷酸腺苷(ATP)
　光合磷酸化　327～328
　肌肉收缩　269～271
　能量传递　72～74
　氧化磷酸化　300～306
扫描电子显微镜　21
扫描隧道显微镜　22～23
扫描模型　443
色氨酸　61,448～449
神经递质　143～144
神经递质门通道　143～144
神经细胞(神经元)　143
生命
　定义　1
　起源　724～735
生殖细胞　524,564
生殖质　567
生长激素　532
生长因子
　表皮生长因子　394,534,680

成纤维细胞生长因子 394, 534
神经生长因子 394, 534
血小板生长因子 394, 534, 680
胰岛素生长因子 394
视黄酸 644
噬菌体 50
施莱登(M. Schleidon) 5
施旺(T. Schwann) 5
受精卵 564, 591
受体蛋白
细胞表面 380 ~ 381
离子通道关联受体 380 ~ 381
G 蛋白关联受体 381, 383 ~ 393
酶关联受体 381, 393 ~ 397
细胞内 379 ~ 380
受位(A 位) 199
收缩环 280, 514
双分子层 91 ~ 97
双线期 521 ~ 522
双胸复合物 611 ~ 614
AbdA 612 ~ 614
AbdB 612 ~ 614
Ubx 612 ~ 614
双微小体 419, 666
水 58 ~ 59
氢键 58
偶极子 58
水孔蛋白 134 ~ 135
死亡配体 654
死亡受体 654
斯威德伯格单位(S) 28
丝足 123 ~ 124
随体 360
随体 DNA(卫星 DNA) 371
髓样小体(见溶酶体) 228
羧基端结构域(CTD) 421

T

踏车现象 247, 273
TATA 框 423, 455
TBP 相关因子 456
tRNA 433 ~ 439
氨基酸附着部位 438
核糖体识别部位 438
密码子识别部位 438
肽键 205
肽基转移酶中心 199, 205
肽聚糖 176 ~ 177
太阳虫 262
糖蛋白 104, 108, 111, 162
分泌 193
合成 192
修饰加工 216 ~ 218
糖萼 107 ~ 108
糖苷键 66 ~ 67
糖基化 192, 216 ~ 218
糖基转移酶 217
糖胺聚糖 149 ~ 153
糖酵解 297
糖原 66 ~ 67, 195
糖脂 70, 102, 108
弹性蛋白 157 ~ 158
体节极性基因 607 ~ 609
天线复合体 326
调节基因 448
铁硫蛋白(FeS) 298, 313
铁氧化还原蛋白 328 ~ 329
停靠(泊)蛋白 472
停止转移序列 681
同步化(细胞周期) 534 ~ 536
同工酶 80 ~ 81
同源异型选择基因 610 ~ 615
HOM 基因 614 ~ 615
Hox 基因 627 ~ 629
同源染色体 517 ~ 522
通用转录因子 455 ~ 458, 550
通道蛋白 137
童第周 583 ~ 584
透明质酸 149 ~ 151
透明质酸酶 151
透射电子显微镜 21
突触 143 ~ 145, 168
团聚体 729 ~ 731
退火 65
吞噬作用 127
拓扑异构酶 404 ~ 406, 414
唾腺染色体 361 ~ 363
唾液酸 108

U

U1, U2, ……U7(见 snRNA) 427, 436
UTR(见非翻译区) 467 ~ 468

W

外被(见糖萼) 107 ~ 108

外胚层　544, 576, 632
外排作用　127, 130, 220
外植体　35
外显肽　446
网质蛋白　190, 194
魏尔荪(E. B. Wilson)　7
微胞饮作用　128
　机制　127 ~ 128
　穿胞运输　128 ~ 129
微管　49, 175, 244 ~ 262, 358 ~ 359, 507 ~ 511
　功能　250 ~ 262
　结构　244 ~ 247
　纤毛　256 ~ 261
　中心粒　254 ~ 256
　轴足　261 ~ 262
　自我装配　247
微管蛋白
　α 微管蛋白　245 ~ 249
　β 微管蛋白　245 ~ 249
　γ 微管蛋白　255
微管相关(结合)蛋白(MAP)　246
微管组织中心　247 ~ 248
微管滑动学说　259 ~ 260
微粒体　28, 190
微球学说　731 ~ 733
微绒毛　122 ~ 124, 279, 530
微生物工程　694
微丝　9, 49, 272 ~ 281
　化学成分　273
　作用　276 ~ 281
微体　235 ~ 241
微原纤维　172
尾随片段　424 ~ 425
位置信息　590
位置值　590, 627 ~ 633
乌本苷　140
戊二醛　243
戊糖　66
物质运输　127 ~ 145
　穿膜运输　134 ~ 145
　被动运输　134 ~ 138
　主动运输　134, 138 ~ 145
　膜泡运输　127 ~ 133
无丝分裂(见细胞分裂)　505 ~ 506
无性繁殖　696

X

X 染色体　354
X 光　21
吸能反应　72 ~ 74
细胞
　原核细胞　45 ~ 46
　真核细胞　47 ~ 49
细胞癌基因　674
细胞壁　171 ~ 176, 176 ~ 178, 514 ~ 515
细胞板　514 ~ 515
细胞重建　734 ~ 735
细胞拆合　703 ~ 705
细胞电泳　32
细胞凋亡(见程序性细胞死亡)　296, 648 ~ 661
细胞分化　122, 539 ~ 581
细胞分裂　503 ~ 536
　胞质分裂　280, 512 ~ 515
　减数分裂　515 ~ 525
　无丝分裂　505 ~ 506
　有丝分裂　506 ~ 515
细胞工程　694 ~ 720
细胞骨架　9, 49, 242
　微管　9, 49, 244 ~ 262, 358 ~ 359, 507 ~ 511
　微丝　9, 49, 272 ~ 281
　中间丝　9, 281 ~ 284
　核骨架　347 ~ 348, 373 ~ 375
细胞核　4, 48, 340 ~ 341
　结构　341 ~ 375
　起源　740
　核被膜　341 ~ 348
　核骨架　244, 373 ~ 374
　核孔　341 ~ 347
　核仁　365 ~ 367
　核仁组织区　366
　核纤层　347 ~ 348
细胞坏死　648 ~ 649
细胞进化　735 ~ 746
细胞连接　112 ~ 122
　紧密连接　113 ~ 115
　黏合连接　115 ~ 116
　隔状连接　116
　桥粒　116 ~ 118
　间隙连接　118 ~ 121
细胞膜(质膜)(见质膜)　89

细胞培养 33～35,695～699
细胞谱系 567,636
细胞器(见各个细胞器) 49
细胞融合(细胞杂交) 35,95,548,699～703
细胞色素 298,323,326～327
　光合作用 325～333
　呼吸链 298～330
细胞色素 c
　电子传递链 298
　细胞凋亡 658～659
细胞色素氧化酶 298～299,302～305
细胞识别 109～110
细胞松弛素 B 274,277
细胞衰老 648～650
细胞系 34,667
细胞学说 4～5
细胞外被(糖萼) 107～112
细胞外基质
　基膜 162～169
　胶原 154～157,163～166
　胶原纤维 155～157
　弹性纤维 157～158
　层粘连蛋白 151,166～170
　纤连蛋白 159～162
　细胞壁 171～178,697
细胞显微光谱分析技术 26
细胞信号传递 378
细胞质 5,49,564～575
细胞质溶质 183～187
细胞周期
　G_0 530
　G_1 527～528
　G_2 529
　S 528
　M 526
　检测点 530
细胞株 34
细肌丝 267～268
细线期 517
小核 RNA(snRNA) 427,436
协调性 78～79
协助扩散 137～138
衔接蛋白 131
纤连蛋白 159～162
纤维蛋白 154～159
纤毛 127,256～263
先成论 582
先导片段 424
腺苷酸环化酶 386
纤维素 172～175
线粒体 7,288
　ATP 合成酶(F_0-F_1 因子) 300
　DNA 308～309
　呼吸链 298～299
　嵴 292～293
　基质 293
　渗透转变孔 296
　外膜 292
　氧化磷酸化 297～306
显微操作技术 35
显微操纵仪 35
显微镜 2～4,15～23
显微摄影术 17,20
显微注射 35,715,719
相变温度 98～99
相差显微镜 18～19
缬氨酶素 136
缬氨酸 61,136
信号传递级联(见传递途径) 171,382
信号传递途径 383～397
信号分子 382～383
信号识别颗粒 191,472
信号肽(导肽) 191,472～473,480～481
信号学说 471～473
信号序列 191,472～473
信号细胞 378
信号转导 378～397
信息体 571
锌指结构域 460～461
形态发生素 571
性染色体 354
性细胞 566～569
星体 507
秀丽隐杆线虫(*Caenorhobditis elegans*) 566～567,651
血红蛋白 556～560
血红素 562～563
血型 111～112
血型抗原 111
血型糖蛋白 111
血影 105
血影(膜)蛋白 99,105～106

Y

Y 染色体　38～39
亚中着丝粒染色体　357
亚线粒体小泡　297
烟草花叶病毒　50
烟酰胺腺嘌呤二核苷酸
　(NAD⁺)(辅酶Ⅰ)　297
　还原型(NADH)　298～299, 302
烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸
　(NADP⁺)(辅酶Ⅱ)　327～328
　还原型(NADPH)　327～328
氧化磷酸化　297～306, 311～313
叶黄素　322, 325
叶绿素　318, 322, 326
叶绿体　7, 51, 316
　暗反应　330～333
　半自主性　333～334
　光反应　325～330
　光合磷酸化　327～330
　来源　334～336
　结构　317～320
　起源　740～746
液泡　47, 224
遗传工程　693～694
胰蛋白酶　265
胰岛素　10, 218～219
胰岛素生长因子　394
衣壳　51
衣粒(壳微粒)　51
衣藻　539
衣被单元
　包被小泡　491～494
衣被小泡　130～133, 234
一磷酸腺苷(AMP)
　环形 AMP(cAMP)　386～389
乙醛酸循环体　238～239
乙酰辅酶 A　296～297
乙酰胆碱　143, 145, 269
乙酰葡糖胺(NAG)　176～177, 192
乙酰胞壁酸(NAM)　176～177
异染色体　354
异染色质　348～349, 354
　恒定型(组成型)　354
　兼性　354
缢痕　357
抑素　528, 531
抑癌基因　684～688
引物　407～408
引发体　408
引发酶　408, 413
隐蔽 mRNA　574
荧光显微镜　18
应力纤维　279～280
有被小泡(即衣被小泡)　130～133, 234
有被小窝(即衣被小窝)　130
有丝分裂　506～512
　分期　506～512
　染色体移动　508～511
　动粒结构　506, 509, 511
有丝分裂器　261, 507
　纺锤体　507～508
　星体　507
诱导　575～576
诱导物　448～449
游动孢子　539
预成论(见先成论)　582
愈伤组织　696～697
鱼精蛋白　370
圆泡　125, 127
圆球体　224
原癌基因　675～677, 681～684
原核细胞　45～47, 364～365
原肌球蛋白　267～268
原丝　245
原生动物　220
原生质　5, 43, 89
原生质体　43, 47
原生质体培养　697～698
原位杂交　28, 30
运输蛋白　135
运输小泡　127～133
运铁蛋白　132, 229～230

Z

Zeta(ζ)电位　32
Zeta 结构　404
杂交瘤　692～694
再分化(转分化)　699～702
再生　641～647
造粉体　316, 336
增强子　455～458, 558～559
增殖细胞核抗原　410
爪蟾　413, 571, 624

褶皱 125
真核生物 45
真核细胞 47~49,340
整合(膜)蛋白 95,104,321
整联蛋白 169~171
脂肪酸 68~69
脂类 67~71,89~91,97~99,194
  相态 97~98
致癌病毒(见肿瘤病毒) 671~674
致癌基因(见癌基因) 674
致癌剂 669~671
植物发育 635~637
植醇 736,738
植烷 736,738
植物凝集素(见凝集素) 95~97,110
植物
  顶端分生组织 635~637
  根 635
  胚胎发育 634~635
质粒 54
质膜
  单位膜 93
  电位 31,141~142
  分化 181~182
  结构 101~107
  流动性 97~101
  膜蛋白 99~101,104~107
  膜脂 97~99,102~104
质体 6,316,336
质体蓝素 326~327
支链淀粉 66
肢体发育 629~634
枝原体 45~47
质子泵 302~305
脂质体 102
终变期(见减数分裂) 522
中间丝 9,263,281~284
  波形蛋白丝 281
  核纤层蛋白丝 281
  角蛋白丝 281
  结蛋白丝 281
  神经丝 281
中间体 514
中胚层 573
中胚层诱导 624~625
中期(见细胞分裂) 508~509,522,523
中心法则 10,419~420
中心粒 49,255~256
  结构 256
  起源 741
  纤毛发生 260~261
  形态 255~256
  中心粒周物质 255
  装配 255~256
中心体 7,247,254~255
终止密码子 424
终止信号 437,444
终止子 423~424
(细胞)周期蛋白 533
肿瘤病毒 671~674
肿瘤细胞 665
轴丝 257~262
轴足 261~262
珠蛋白 556~560,563~564
主缢痕 357
转分化 543,642,645~647
转化生长因子 396
转基因动物 711~712,714~717
转基因植物 717~718
转录 419,453~465
  mRNA 422~430
  rRNA 430~433
  tRNA 433~436
  起始复合物 442
转录因子 452~453,455~463
转入(导入;转移) 714,717~718
转移核糖核酸(tRNA) 433~436
  分子结构 433~435
  功能 433,438~439
转录因子(见基因调节蛋白) 452,455
着丝粒 357~360
自噬小体(自噬溶酶体) 228
自我复制 43
自我装配 43
自由扩散(简单扩散) 135~136
自由能偶联 72~74
紫外光(线)显微镜 17
组蛋白 350
  H1 350~353,369~370
  H2A 350~352,369~370,

414, 453
H2B　350 ~ 352, 369 ~ 370, 414, 453
H3　350 ~ 351, 369 ~ 370, 414, 452 ~ 453
H4　350 ~ 351, 369 ~ 370, 414, 452 ~ 453
组织培养(见细胞培养)　695 ~ 699
阻遏物基因　448
最高分裂次数　648 ~ 649

附录 Ⅲ

分子细胞生物学常用缩写代称

缩写代称	全　　名
A	Adenine 或 adenosine
A	Angstrom
ACTH	Adenocorticotropic hormone
AMP, ADP, ATP	Adenisine 5′-mono, di-, tri-phosphate
ala	Alanine
arg	Arginine
asn	Asparagine
asp	Aspatic acid
ATPase	Adenosine triphosphatase
C	Cytosine
c	Centi, 10^{-2}
c	Velocity of light in vacuum $2.997 \times 10^{10} cm \cdot s^{-1}$
^{14}C	Carbon 14 isotope
cal	Calorie
CaM	Calmodulin
CAM	Cell- cell adhesion molecule
cAMP	Cyclic AMP
CAP	Catabbolite gene activation protein; cyclic AMP receptor protein
CB	Cytochalasin B
CD	Cluster of differentiation
Cdk	Cyclin- dependent protein kinase
cDNA	Complementary DNA
CHO	Cell line from chinese hamster ovary
CMP, CDP, CTP	Cytidine mono-, di-, tri-, phosphate
CoA	Coenzyme A
CoQ	Coenzyme Q(ubiquinone)
CPM	Counts per minute
CSF	Colony-stimulating factor
CURL	Endosome compartment of uncoupling of receptor and ligand
d	deci, 10^{-1}
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
Dnase	Deribonuclease
DPN^{+}, DPNH	NAD^{+}, NADH

缩写代称	全　　名
e^{-}	Electron
EDTA	Ethylene diaminetetraacetic acid
eEF	Eukaryotic elongation factor
EF	Elongation factor
ER	Endoplasmic reticulum
EGF	Epidermal growth factor
FAD, FADH	Flavin adenine dinucleotide, Oxitized and reduced forms
FGF	Fibroblast growth factor
fmet	*N*-formylmethionine
FMN, $FMNH_2$	Flavin mononucleotide and its reduced form
$F_0 - F_1$	ATP synthase complex
FP	Flavoprotein
g	Gram; gravity
G	Giga, 10^{9}
G_1	Gap 1(in interphase)
$\Delta G^{0\prime}$	Standard free-energy change at pH7
GABA	γ-aminobutyric acid
GAG	Glycosaminoglycan
Gal	D-galactose
GAP	GTPase activating protein
GERL	Golgi-ER-lysosome
Glc	Glucosamine
GlcNAc	*N*-acetyl-D-glucosamine
GMP, GDP, GTP	Guanosine mono-, di-, tri-phosphate
GNRP	Guanine nucleotide releasing protein
^{3}H	Tritium
HAT	Hypoxanthine-aminopterin-thymidine medium
Hb	Hemoglobin
HeLa	Cell line from human cervix carcinoma
HGPRT	Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase
HIV	Human immunodeficiency virus
HMM	Heavy meromyosin
hnRNA	Heterogeneous nuclear RNA
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA	Human leucocyte-associated

续表

缩写代称	全　名	缩写代称	全　名
	antigen		and its reduced form
HLH	Helix-loop-helix motif	NOR	Nucleolar-organizing region
hnRNA	Heterogeneous nuclear RNA	NSF	*N*-ethylmaleimide-sensitive fusion protein
HTLV	Human T-cell leukemia virus		
IGF	Insulin-like growth factor	OH^-	Hydroxyl ion
k	Kilo, 10^3	p	pico, 10^{-12}
kcal	Kilocalorie	p_i	Iorganic phosphate
l	Liter	P_{680}(PS Ⅱ)	Photosystem Ⅱ(680, light wavelength)
λ	Wavelenth; lambda phage		
LDH	Lactate dehydrogenase	P_{700}(PS Ⅰ)	Photosystem Ⅰ(700, light wavelength)
LH	Luteinizing hormone		
LMM	Light meromyosin	PCNA	proliferating cell nuclear antigen
LCR	Locus control region		
LDL	Low-density lipoprotein		
LIF	Leukemia inhibitory factor	PCR	polymerase chain reaction
M	Mega, 10^6	PDGF	platelet-derived growth factor
M	Molar concentration		
m	Meter	PEP	Phosphoenolpyruvate
m	Mili, 10^{-3}	PGF	Platelet-derived growth factor
μ	Micro, 10^{-6}		
MAP	Microtubule-associated protein	pH	Hydrogen ion concentration
		PHA	Phytohemagglutinin
Mb	Myoglobin	PIP	Diphosphoinositide
mg	Milligram	PKA	Protein kinase A(A-kinase)
MHC	Major histocompatibility complex	PKC	Protein kinase C(C-kinase)
		pp_i	Inoganic pyrophosphate
min	Minute	RBC	Red blood cell
ml	Mililiter	rDNA	Ribosomal DNA
MLCK	Myosin light chain kinase	RER	Rough endoplasmic reticulum
mm	Millimeter	RGD	Arg-Gly-Asp sequence
mol	Mole	RNA	Ribonucleic acid
mol. wt. (M. W.)	Molecular weight	Rnase	Ribonuclease
MPF	M-phase-promoting factor	RNP	Ribonucleoprotein
mRNA	messenger RNA	rpm	Revolutions per minute
MTOC	microtubule-organizing center	rRNA	Ribosomal RNA
μm	Micrometer	RSV	Rous sarcoma virus
μmol	Micromole	RuBP	Ribulose - 1, 5 - biphosphate
N	normal concentration	S	Svedberg unit(10^{-13}s)
n	nano, 10^{-9}	s	Second
^{15}N	Nitrogen 15, "heavy nitrogen"	SEM	Scanning electron microscope
NAD^+, NADH	Nicodinamide adenine dinucleotide, oxidized and reduced form	SER	Smooth endoplasmic reticulum
		SNAP	Soluble *N*SF attachment protein
$NADP^+$, NADPH	Nicodinamide adenine dinucleotide phosphate, oxidized and reduced form	SNAPE	SNAP receptor
		SV 40	Simian virus 40
		snRNA	Small nuclear RNA
NGF	Nerve growth factor	3T3	Cell line: from mouse embryo fibrablast
nm	Nanometer		
NMN^+, NMNH	Nicodinamide mononucleotide	TEM	Transmission electron micro-

续表

缩写代称	全　　名	缩写代称	全　　名
	scope	U	Uracil or uridine
TGF	Transforming growth factor	UMP, UDP, UTP	Uridine mono –, di –, tri –, phosphate
TMP, TDP, TTP	Thymidine mono-, di-, tri-phosphate	UTR	untranslated region
TMV	Tobacco mosaic virus	UV	Ultraviolet
TPA	Tetradecanoylphorbol Acetate(phorbol ester)	v	Volt
TPN^+, TPNH	i. e. $NADP^+$, NADPH	YAC	Yeast artificial chromosome
TPP	Thiamine pyruphosphate		
tRNA	Transfer RNA		

附录 Ⅳ

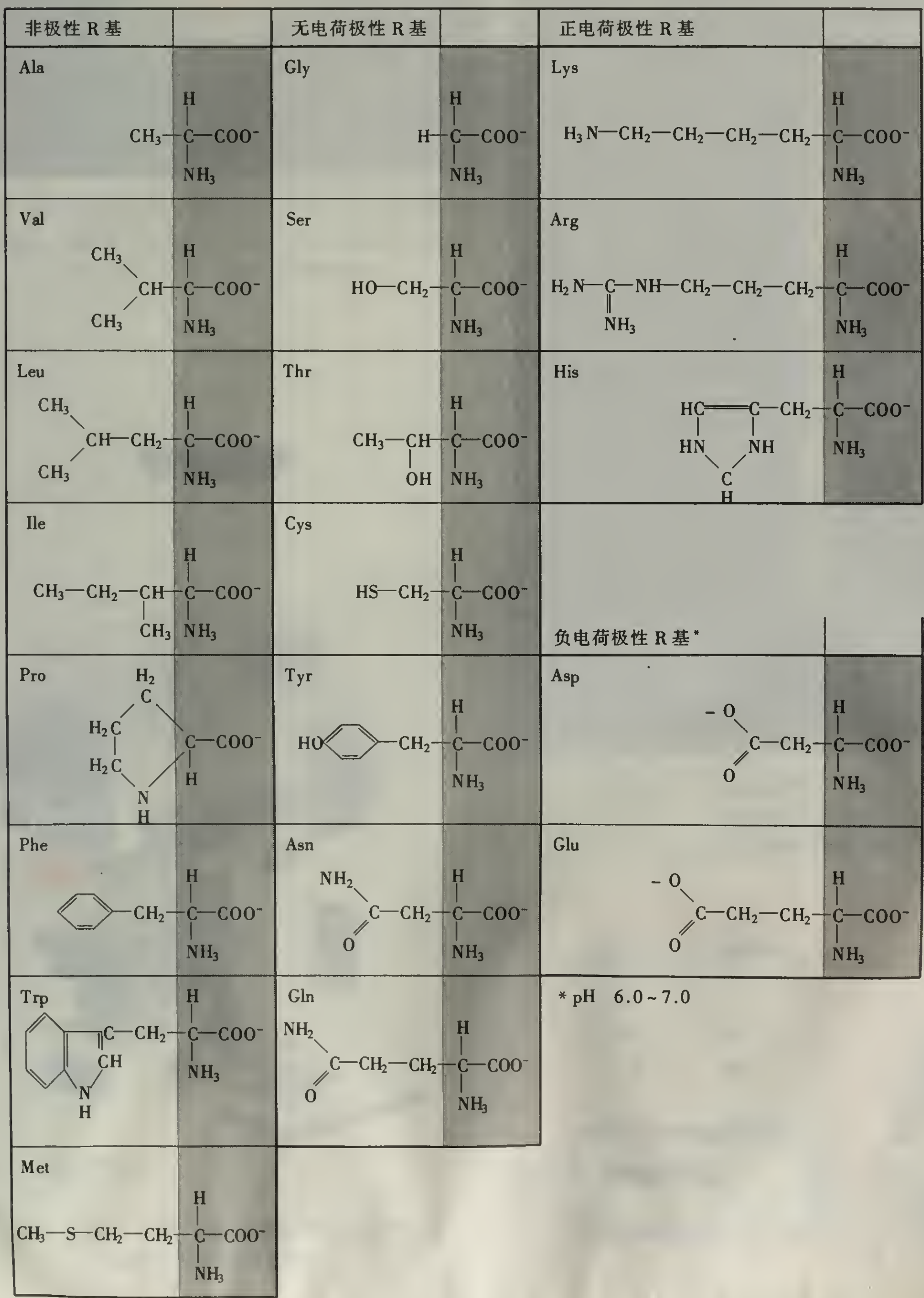
氨基酸代号和密码子

中文名	英文名	英文名缩写	代号	R 基极性	密码子
丙氨酸	Alanine	Ala	A	⊗	GUC GCC GCG GCU
缬氨酸	Valine	Val	V	⊗	GUA GUC GUG GUU
亮氨酸	Leucine	Leu	L	⊗	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
异亮氨酸	Isoleucine	Ile	I	⊗	AUA AUC AUU
脯氨酸	Proline	Pro	P	⊗	CCA CCC CCG CCU
苯丙氨酸	Phenylalanine	Phe	F	⊗	UUC UUU
色氨酸	Tryptophan	Trp	W	⊗	UGG
甲硫氨酸	Methionine	Met	M	⊗	AUG
甘氨酸	Glycine	Gly	G	*	GGA GGC GGG GGU
丝氨酸	Serine	Ser	S	*	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
苏氨酸	Threonine	Thr	T	*	ACA ACC ACG ACU
半胱氨酸	Cysteine	Cys	C	*	UGC UGU
酪氨酸	Tyrosine	Tyr	Y	*	UAC UAU
天冬酰胺	Asparagine	Asn	N	*	AAC AAU
谷氨酰胺	Glutamine	Gln	Q	*	CAA CAG
赖氨酸	Lysine	Lys	K	+	AAA AAG
精氨酸	Arginine	Arg	R	+	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
组氨酸	Histidine	His	H	+	CAC CAU
天冬氨酸	Aspartic acid	Asp	D	-	GAC GAU
谷氨酸	Glutamic acid	Glu	E	-	GAA GAG
					UAA UGG(终止密码子)

注:⊗. 非极性;* . 不带电荷极性;+. 正电荷;-. 负电荷

附录 V

氨基酸的极性



* pH 6.0~7.0

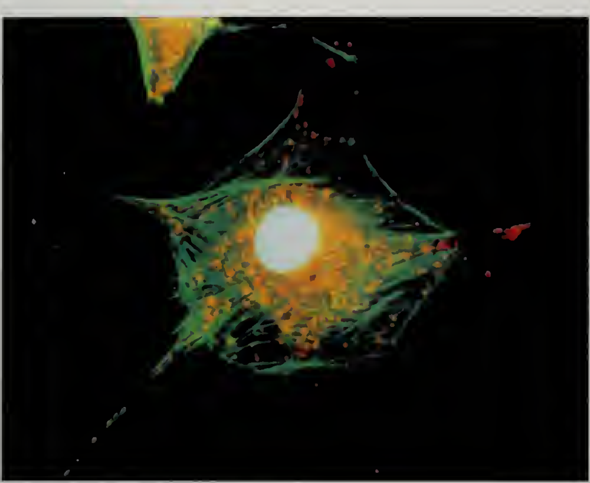


图 2-5　小牛肺动脉内皮细胞多荧光剂染色后的显微图像
红：线粒体；绿：F－肌动蛋白；浅蓝：核（Molecular Probe, Inc. 制片、Nikon E800 显微镜拍照）



多功能照相套

图 2-10　Nikon E800 型显微镜的外观和部件配置
（采用 CFI60 光路系统）

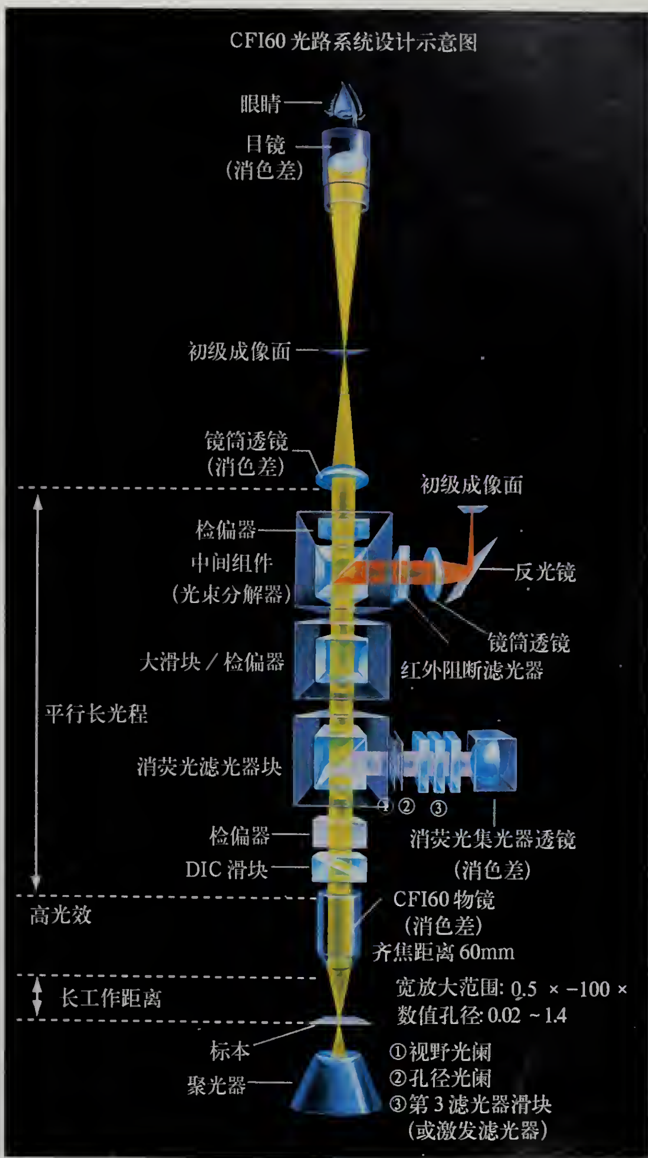


图 2-9　Nikon 设计的 CFI60 光路系统示意图
（与图 2-1 光路比较）
显微镜各主要部件可根据需要任意配置

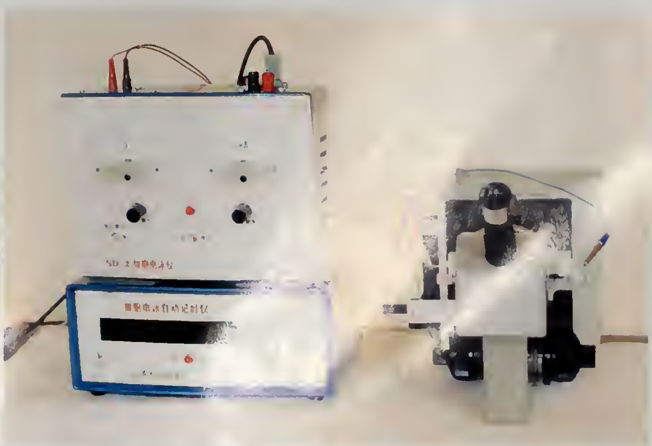


图 2-22　SD II 型细胞电泳仪（刘玉章设计）

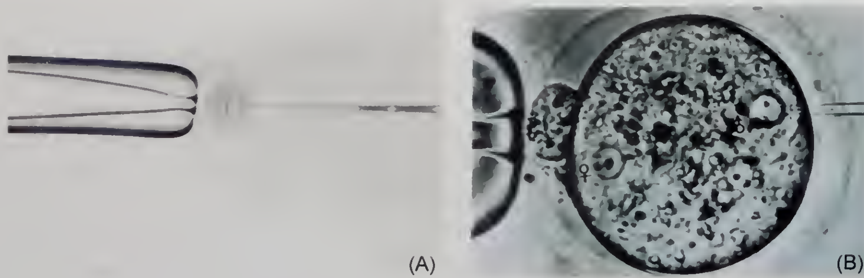


图19-12



图 19-13　克隆羊“Dolly”与其核供体羊 Finn Dorset（roslin Institute 赠，2000）
Dolly 羊的养母为 Scottish Blackface 母羊



图 19-15　由普通小麦与高冰草经体细胞杂交获得的第三代植株
示正在大田繁育（夏光敏赠）

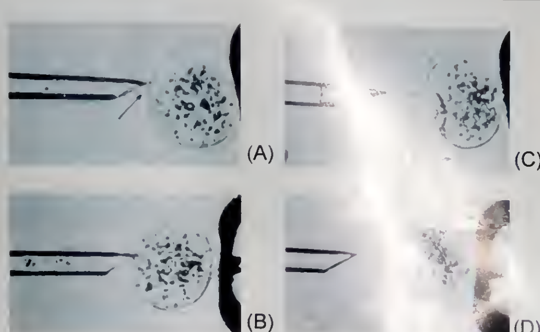


图19-14

中科院植物所图书馆
S0003517

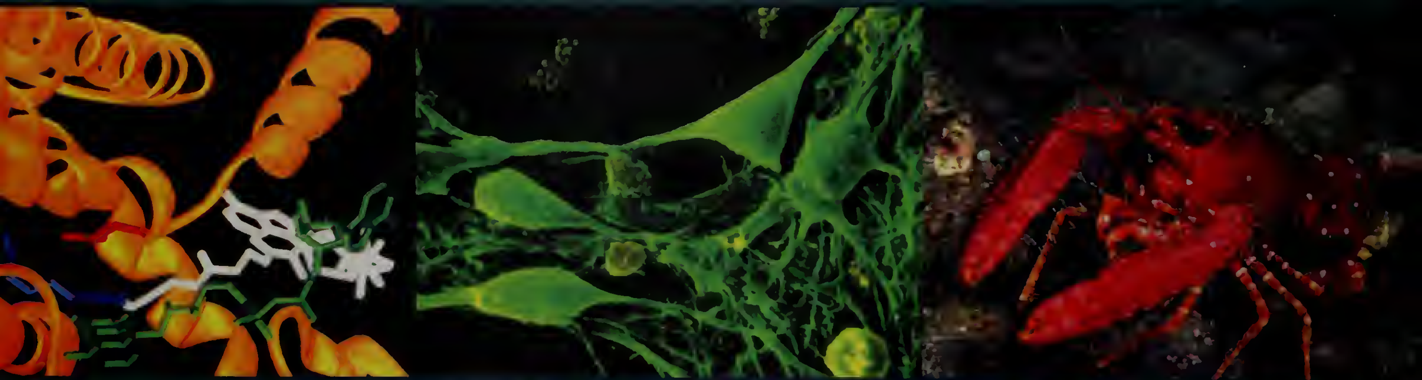
收到期 2004.5.1
来源 人天
书价 69.00元
单据号
开票日期

58.178054
827
000027839
2001.3
分子细胞生物学
发育中心 邓馨 2004.5.31

58.178054
827
000027839

(Q-0993.0203)

分子细胞生物学	本书全面系统地讲述了细胞生物学的基本内容，在介绍细胞的一般结构和功能的基础上，重点扩增了细胞在发育、遗传、信息传递中的活动和细胞生物工程等方面的内容，体现了细胞的生命属性。本书依据素质教育的原则，在体系安排上，引导学生建立学科系统概念，理解学科发展的连续性；在辅助环节上，注意方法论，启发学生独立思考，培养学生科学思维的创造能力。本书打破了以课时定量的“教案式”结构，篇幅有了较大的扩增，既有利于学生阅读，也为教师的教学留下了游刃空间。 本书可供大学生物学相关专业作为生物基础课教材，也可供相关专业的研究生参考。





徐晋麟 徐 沁 陈 淳 编著 定价：68.00 元

ISBN 7-03-008639-2

9 787030 086396 >

ISBN 7-03-008639-2
定 价：69.00 元